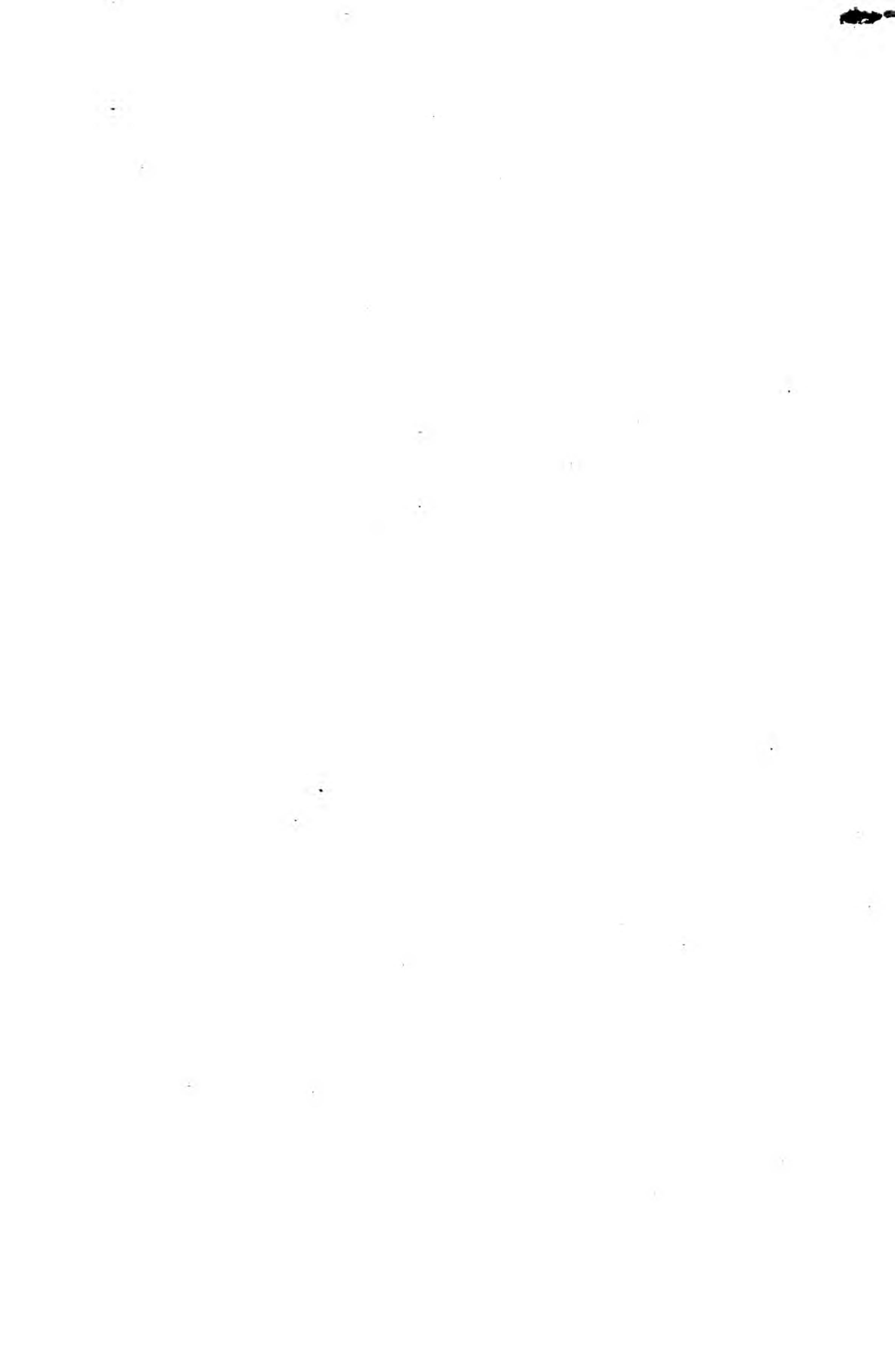










Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

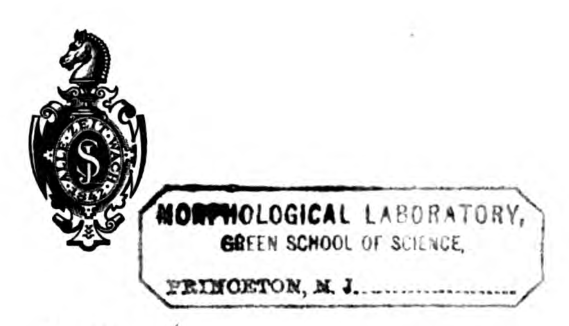
unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zweiundneunzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1918.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig

Inhaltsverzeichnis.



Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum. VII.

Die Bindungsformen des Phosphors und ihre analytischen Wechselbeziehungen mit besonderer Berücksichtigung der lipoiden (Phosphatide).

Derzeitiger Stand und Weiterbildung der Mikroanalyse der Phosphorsäure und ihre Anwendung auf die Bestimmung des Lecithins und des krystalloiden Phosphors.

Vergleichende Untersuchungen über Isolierung und Bestimmung des lipoiden Phosphors (Lecithins)[1].

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 4. Juli 1918.)

Einleitung.

In der vorliegenden (Nr. VII der Reihe) Mitteilung soll eine Frage erörtert werden, die für das Thema der Phosphate (spez. des krystalloiden P) im menschlichen Blutserum in erster Linie mittelbare Bedeutung hat. Sie betrifft die methodischen Verhältnisse der Phosphatide (des Lecithins, der rechnerischen Formulierung des lipoidgebundenen, kolloiden P) des Serums, dehnt sich auf das Verhalten der betr. Fraktion im Vollblute und den Erythrocyten aus und ist nach den neuesten Stufen der analytischen Entwicklung (gegenwärtiger Stand, Vorschläge, Ausblicke) abzuhandeln. Der nicht krystalloide Phosphor ist, wie eine Überschau des Gebietes nach den jüngsten Beobachtungen lehren kann, weitgehend abhängig von den methodi-

[1]) Vorstehende Mitteilung, als Glied von Untersuchungen über Lipämien, enthält die einschlägigen Vorarbeiten.

schen Begriffen des „säurelöslichen Phosphors“ einerseits, seinen Unterfraktionen andererseits. Im Mittelpunkt stehen die möglichen analytischen Wechselbeziehungen.

Im Prinzip wurde (und wird heute noch zum größten Teile) die Gewinnung und Bestimmung von „Lecithin“ (der Gesamtphosphatide, aus dem Lipoid-P schematisch formuliert) so gehandhabt, daß der in nichtwäßrigen, indifferenten Lösungsmitteln aus dem auf verschiedenartig orientierten Wegen vorbehandelten Serum extrahierte P als Phosphorsäure, ebenfalls unter mehrfachen Voraussetzungen, zur Analyse gelangt. Der nach dem gewählten Verfahren isolierte (bzw. nach Aufschluß und Bestimmung gewonnene) P wurde im ganzen, ohne Differenzierung seines Wertes — sei es nun nach der Richtung des Lösungszustandes, sei es nach seinem chemischen Bau im weiteren Sinne — der Rechnung zugrunde gelegt, die zum „Lecithin“ schlechthin führte. Auf solchen Grundlagen beruhen unsere Anschauungen über Phosphatide des Serums im gesunden und kranken Organismus. Die physiologische wie pathologische Bedeutung dieser Fraktion ist aus den Untersuchungen über das Lipämieproblem, über alimentäre Umstimmungen, darunter Inanition usw. bekannt. Die Erscheinung im Bilde der Verdauungslipämie, im Gefüge besonders charakterisierter pathologischer Lipämien ist nicht nur vom beschreibenden, sondern auch vom theoretischen Standpunkte zu hoher Bedeutung gediehen. Die (älteren) Ergebnisse der Literatur sind überwiegend von methodischen Mängeln (jedenfalls in pathologischen Studien, geringer im systematischen) beherrscht, so daß nur mäßige Übersicht in die Sache zu bringen war, bis neue Verfahren auftauchten, die an sich auf günstigeren, oder richtigere Werte verbürgenden Unterlagen stehen, und die — was ebenso wichtig ist für die Theorie des Lecithinbestandes in den Elementen der Blutflüssigkeit wie für die Kenntnis des Methodenkreises — breitere, promptere Anwendung im Bereich der Mikrochemie ermöglichten. Unter früheren Arbeiten findet man auch solche, die nicht auf den Begriff der Gesamtlipoide schlechthin ausgingen, sondern die (theoretisch und analytisch recht wenig begründete) engere Kreise der Gesamtverfahren und -begriffe an die Stelle setzen wollten. Hohe Bedeutung haben Befunde von Beumer und Bürger.

Bedeutung von Kenntnissen über die Phosphatide des Blutes.

Die Bedeutung zureichender Kenntnisse über die Fraktion der Blutphosphatide erhellt namentlich aus jüngeren Arbeiten über pathologische Lipämien.

Klemperer und Umber schufen den Begriff der Lipoidämie, Beumer und Bürger beforschten einzelne wichtige Fälle aus Gruppen besonderer Erkrankungen in recht eingehenden Analysen, Stepp brachte mit Kimura Zahlen aus der Pathologie (für ätherlöslichen Phosphor), Greenwald brachte (mit seiner besonderen Methode, s. u.) Lecithinwerte, Taylor und Miller (Verfahren siehe unten), dgl. Bloor in systematischen Analysen von Gesunden und Kranken (schematische Beschreibung in Auswahl). Schon früher hatte die Lecithinämie bei Geisteskrankheiten, vor allem durch Peritz, aber auch durch Bornstein, ferner in befriedigender und später von Greenwald besonders gewürdigter Weise durch Lesser Interesse erregt. Auch alimentäre Verhältnisse waren hin und wieder in den Kreis der Untersuchungen einbezogen worden. Diese Aufgaben sind jedoch erst in allerjüngster Zeit nach Schaffung der neuen Methoden (s. u.) durch Greenwald, besonders durch Bloor wie durch beschreibende Arbeiten von Feigl auf festere Füße gestellt worden. Die Arbeitsweisen der Schule Fränkel beherrschen die präparative Richtung. Wichtig sind hier Studien von Beumer und Bürger.

Ergebnisse über Lecithinämie in isolierten Befunden haben, wie kürzlich Verfasser betonte, keine rechte Grundlage, es sei denn den analytischen Selbstzweck. Sie bedürfen der Stütze durch Beschreibung des Lipämiekomplexes und seiner Wechselbeziehungen nach innen wie nach außen.

Eine andere Frage dieser Richtung wird jedoch die sein, ob — eben nach Schaffung der maßgebenden Anhaltspunkte — Lecithinzahlen für sich wie bei einfacher Kombination (mit Cholesterin oder mit Neutralfett oder mit Gesamtfettsäuren) in pathologischer oder evtl. klinisch-diagnostischer Richtung von praktischem Werte sein könnten. Darüber ist heute kaum entscheidend zu urteilen. Was die Rolle des Lecithins im Komplexe der Lipämie angeht, so kann diese nicht nachdrücklich genug gewürdigt werden. Lipoid-P (oder Gesamtphosphatide oder fällbarer, kolloider P) ist ein entscheidender Bestandteil des Fett-Lipoidgemenges im normalen wie pathologischen Blute. Fassen wir das Plasma ins Auge, so gewinnen wir die Grundlage für die Betrachung der meisten Lipämien (bzw. „Lipoidämien“). Diese beruhen auf verschiedenen Ursachen (wennschon überwiegend von der Leber, sonst auch von

der Milz bestimmt) und sind unter weitgehend abweichenden äußeren Begleiterscheinungen oder Vorbedingungen entstanden. Ihre Erscheinung — sichtbar oder maskiert — wird von dem sonstigen chemischen Gefüge des Plasmas bestimmt. Ihre Gliederung hat bestimmende Züge mitbekommen von seiten der besonderen pathologischen Verhältnisse. Sie ist zu umschreiben und analytisch zu charakterisieren, um die Lipämie zu einer „spezifischen“ „atypischen“ oder wenigstens „bestimmt gearteten“ zu stempeln, um sie in Zusammenhang zum sonstigen Wesen der betr. Krankheit zu setzen und um letzten Endes — Art, Form, Verlauf, besondere Züge der betr. Erkrankung zu beschreiben oder diagnostisch zu erhellen. In diesem Gefüge spielt Lecithin (der Begriff kurzerhand an Stelle der präziseren Form gesetzt, s. u.) eine wichtige Rolle. Es steht neben Cholesterin (Gesamt-, Esteranteil) und Neutralfett und formt sich in gewisse Beziehungen zu den gesamten Fettsäuren, zum Cholesterin usw., endlich zum Gesamtextrakte.

Voraussetzung für seine richtige Erfassung und die Abschätzung seiner Bedeutung ist die zutreffende analytische Darstellung seiner Zahlenverhältnisse durch Isolierung, Bestimmung, Abgrenzung, welch letztere auf die übrigen Formen des P im Serum zu sehen hat. Nun sind, wie eine Überschau der älteren (auch z. T. der jüngeren) Literatur in den fraglichen Abschnitten des Lipämieproblems mühelos dartut, die widersprechendsten Urteile auf Grund abweichend gearteter und sehr verschieden genauer methodischer Unterlagen formuliert, niedergelegt und berücksichtigt worden.

Bei der diabetischen Lipämie gibt eine Überschau der Zahlen die seltsamsten Kombinationen. Erst die Festlegung alimentärer Vorbedingungen und die Beobachtung von Bildung und Abbau lipämischer Veränderungen bringt Licht in die Sache. Man nahm im allgemeinen an, daß Lecithin relativ sinke. Doch hat Verfasser betont, daß die keineswegs zureichende Ermittelung des Lipoids in den älteren Arbeiten zu einer fälschlichen Theoretisierung der Rolle des Lecithins bei Diabetes (und im Fettstoffwechsel) führen dürfte. Bei Lecithin ist die Analyse — besonders wenn der Gesamtextrakt und Fett sehr hoch waren — relativ am schlechtesten gestellt gewesen. Bloor fußte auf seiner Methode (s. u.) und urteilte, daß im Diabetes die Fähigkeit der Zellen zu Lipoidbildung relativ zurückgegangen sei. Er weist also dem Lecithin eine besondere Bedeutung zu. Feigl hat darauf hingewiesen, daß zur Beurteilung von Lecithinwerten bei Diabetes (auch sonst) die gründliche

Abwägung aller pathologischen Vorbedingungen gehöre (Inanition, Verfall, Lues usw., Cirrhose, Cholämie, Ernährungsform, Verlauf).

Bei den lipämischen Umstimmungen, so wie sie durch Cholämien heraufgeführt werden, existierten nur sehr wenige Beobachtungen, bis Feigl seine breiteren Ergebnisse mitteilte. Cholämie verhindert schon die Verdauungslipämie und vermag gewaltige Fett-Lipoidmengen unsichtbar zu machen[1]). In der Theorie dieser „Maskierung" spielte eine Zeitlang das Lecithin eine Rolle, bis man in den Gallensäuren (einer besonderen Gruppe) die Faktoren bestimmte, und bis von anderer Seite gesagt wurde, es sei nicht ein einzelner Stoff der Träger dieser Wirkung, sondern das Zusammenspiel der Gallensubstanzen in ihrer Gesamtheit. Früher waren in wenigen (3) Beobachtungen höhere Lecithinzahlen gesehen worden. Feigl, der die gesamten klinischen und anatomischen Angaben benutzte, kommt zu dem Schlusse, daß bei maskierter, cholämischer Lipämie das Lecithin in verschiedener Form zurücktrete gegen Cholesterin und Fettsäuren. Er meinte auch, daß wenn schon chemisch lösende (Ca-Seifen u. a.) Kräfte am Werke seien, auch die hydrolytischen durch Gallenstoffe beeinflußt wären, und daß bei längerem Verweilen die labilsten Anteile zunächst abgebaut würden. Diese umfassen sicherlich die Phosphatide, welche also möglicherweise bei der Retention der Fette zunächst gemindert werden. Jedenfalls spielt auch bei Versuchen zur Beschreibung der cholämischen Lipämie das Lecithin eine (im einzelnen von den sonstigen Vorbedingungen) abhängige Rolle. Über Maskierung von Fett und Lipoiden durch andere Faktoren ist bisher nichts bekannt. Ganz für sich besteht die Lehre von Mansfeld u. a. über sekundäre Bindungen.

Die Lipämien bei gewissen nephritischen Erkrankungen, bei Alkoholschäden, bei Intoxikationen usw. bedürfen zum großen Teile noch der Klärung trotz neuerer Arbeiten von Bloor, die für einzelne Verhältnisse isolierte Zahlen geben.

Die sogen. Lecithinämie bei (oder im Gefolge) der Lues charakterisiert sich als hyperlecithinämische Lipämie, die wenigstens zum Teile einseitig orientiert erscheint. Verfasser belegte die Verhältnisse (für Tabes usw.) näher und betonte, daß man auch hier nur durch allgemeine Beschreibung des Lipämiekomplexes weiterkomme. Dabei zeigten sich recht verbreitet Gefüge, die nicht rein hyperlecithinämisch sind, sondern die allgemein als Lipämien zu gelten haben. Bei Aortitis luica wurden von Javal und Boyet sehr hohe Werte für Lecithin (absolut, besonders jedoch relativ, im Gesamtextrakt) gesehen[2]). Gänzlich anders liegen die Verhältnisse z. B. im Spätverlaufe der Leberatrophie; dort sinkt Lecithin im Bilde von Fetten und Lipoiden gewaltig ab (absolut und relativ) nach vorübergehender Steigerung.

Phosphatide sind die labilsten Anteile des Lipämiekomplexes. Lecithin sinkt bei Fieber, großem Arbeitsanspruch, muskulären

[1]) Joh. Feigl, l. c. (Lipämie III). — Derselbe, Über Lipämie VI, diese Zeitschr. **1919**.

[2]) zit. bei Joh. Feigl, Über Lipämien II bis V, **1918**, l. c.

Erschütterungen (Verf.). Es findet sich bei manchen Infektionskrankheiten, selbst wenn sonst die Fette erhöht erscheinen, absolut und relativ gemindert. Bei längerer Inanition, bei Avitaminosen (besonders im Spätverlaufe) sinkt es erheblich und häufig vor der Erfassung des Fettes und vor dem Cholesterin, das seinerseits bei Unterernährung (vor der Einleitung destruktiver Vorgänge) fallen kann. Bei kurzdauernder Inanition findet man verschiedenartige Verhältnisse (in kurzem Verlaufe). Die umstrittene Hungerlipämie klärte Bloor auf, indem er sagte, daß sie nicht generell sei, sondern von den Depotbeständen usw. des betr. Organismus ahhänge[1]). Sie könne daher fehlen. Bei dieser Mobilisation der Fett-Lipoid-Reserve geht nach Verfasser Lecithin im Erscheinen und Vergehen voran, wie neue Befunde (Verf.) an Fettleibigen bei strenger Nahrungsbeschränkung zeigen. Die Lehre von der Mobilisation bzw. von einer verstärkten Zelltätigkeit (auch in der Neuformung) haben bekanntlich besonders Klemperer und Umber in der Theorie der diabetischen Lipämie hervorgehoben[2]). Bei langdauernder, unerbittlicher Einschränkung der Nahrungszufuhr kann (mit oder ohne Hydrämie) Lecithin extrem sinken. Gewisse Bedeutung erlangte Lecithin endlich bei den Umstimmungen im Blute, die gewisse Anämien heraufführen. Dabei wurde von verschiedenen Seiten auf die hämolytischen Eigenschaften gewisser Phosphatide, ferner auf den Rückgang des Cholesterins, endlich auch die ungesättigten Komponenten des Fettsäurebestandes hingewiesen. Leider bestehen bisher nur ganz andeutungsweise Befunde über Natur, Wandlungen und Verhalten des besonders gearteten lipämischen Komplexes bei (hämolytischen) Anämien. Die wenigen Beobachtungen sind auf der Grundlage neuer Methoden zu erweitern und vor allem den präziseren Begriffen für die Teilfraktionen im Lipämiegebiete unterzuordnen. Neben die perniziöse Anämie, den familiären Ikterus u. a. müssen spez. Intoxikationen mit Blutzerfall gereiht werden, etwa in dem von Medak bzw. von King experimentell gewollten Sinne. Hierhin gehören Theorien (z. T. dieselben), die sich auf „hämatogenen" Ikterus beziehen. Wie diese Richtung der Lecithinforschung im Blute andeutet, ist der Lipoid-P der Erythrocyten ein wichtiger Gegenstand der ganzen Frage. Er muß für sich behandelt werden, und Analysen des Vollblutes sind ihrer Mehrdeutigkeit wegen auf Plasma und Körperchen zu beziehen. Im übrigen ist der „Lipämie bei Anämien" (Boggs, Morris, Sakai u. a.) zu gedenken, die ihrerseits in der Lecithinfrage bisher mangelhaft repräsentiert sind.

Aus dem genannten Kreise der Umstimmmungen in dem lipämischen Komplex von Blut und Serum unter den verschiedensten pathologischen Bedingungen hat Verfasser mehrere Untersuchungen mitgeteilt, die nunmehr dem vorliegenden Problem der Phosphatidanalyse im Hinblick auf Vor-

---

[1]) [2]) zit. bei Joh. Feigl, Über Lipämien II bis VI, 1918, 1919.

kommen und Interferenzen der sonstigen Erscheinungsformen von P unterstellt werden sollen. Bei diesen Beobachtungen dienen zur tatsächlichen Benutzung nur die nach den neuesten Methoden von Bloor und Greenwald ermittelten Zahlen. Gleichzeitig wurden jedoch nach den älteren, früher bewährten und daher eine Zeitlang als Standards benutzten und der Beurteilung pathologischer Verhältnisse zugrunde gelegten Methoden Befunde ermittelt. Diese werden hier nunmehr als Vergleichsmaterial herangezogen.

Vorgreifend sei gesagt, daß die Mischung mit indifferentem, anorganischem Materiale (Sand, bei den älteren Untersuchern), Trocknung und als erschöpfend beurteilte Extraktion[1]), daß die Wasserbindung mit Natriumsulfat (s. u. Klein und Dinkin), die Zerkleinerung und Erschöpfung[2]); daß endlich die vorgängige Fällung mit absolutem Alkohol und Weiterbehandlung (im Sinne von Hoppe-Seyler, s. u., Lesser, Kimura und Stepp; Weston und Kent bei der Cholesterinanalyse) herangezogen und vergleichsweise mit der Extraktion nach Bloor und der Fällung in wässeriger Lösung (Adsorption an das koagulierte Protein) nach Greenwald benutzt und beurteilt wurden.

Eigene Untersuchungen über Lipämie.

Die einschlägigen Arbeiten begannen wir im Frühsommer 1915. Ihre Zahlen wurden ohne analytische Kritik vielfach von Feigl, Knack, Luce, Rumpel verwandt. Sie beziehen sich auf Infektionskrankheiten (bes. schwere Dysenterien)[1]), Inanition, Ödem, Kriegsernährung und chemische Konstanten von Blut und Serum [Feigl[2]), Rumpel und Knack[3])], auf akute gelbe Leberatrophie, Leberkrankheiten, Avitaminosen [Feigl und Luce[3])], auf Vergleichsuntersuchungen zum Problem des krystalloiden Phosphors im Serum [Restphosphor[4])], auf lipämische Bilder bei Diabetes[5]), Ikterus[6]), Cholämie[6]), Cirrhosen[6]), Xanthomatosen[7]), Nephritis[7]) u. a. auf die Lecithinämie bei Lues, Tabes, Para-

---

[1]) Z. T. mitbenutzt in späteren Mitt.

[2]) Joh. Feigl (Ödem I), diese Zeitschr. 1918. Diskussion zum Vortrage v. Th. Rumpel, Ärztl. Verein Hamburg. Th. Rumpel und A. V. Knack (Dysent. und Ödem), Dtsch. med. Ztschr. A. V. Knack und J. Neumann Deutsche med. Wochenschr.

[3]) Joh. Feigl (Über Ödem, I) l. c. Joh. Feigl und H. Luce (Ak. Lebertroph. IV), diese Zeitschr. 1918. Joh. Feigl (Ak. gelbe Lebertroph. III) Fette und Lipoide, diese Zeitschr. 1918.

[4]) Z. T. in gem. Mitt., z. T. noch unveröffentlicht.

[5]) Joh. Feigl (Lipämie IV), diese Zeitschr. 90, 1918.

[6]) Joh. Feigl (Lipämie III), diese Zeitschr. 90, 1918.

[7]) noch unveröffentlicht.

lyse [Feigl[1]], auf Normalien, Arbeitsanspruch, Fieber, Verhalten bei Hydrämie [Feigl[2]], auf Beziehungen zum Lipämiekomplex und zur Frage des Cholesterinspiegels [Feigl, Feigl und Neumann[3]]. Diese Arbeiten umfassen ein weites, sehr different geartetes und wohl den meisten möglichen Variationen in den analytischen Vorbedingungen gerecht werdendes Material, das durch vorliegende, noch nicht mitgeteilte Befunde zu erweitern ist. Dies dürfte der jetzt zu besprechenden Frage gute Grundlagen sichern.

P-Verteilung und Vorkommen von Lecithin.

Wenn sonach im großen Ganzen das Gebiet umzogen ist, innerhalb dessen wichtige Schwankungen des Phosphatids im menschlichen Blute einen Teil der Aufgaben bilden (für sich oder im Rahmen der Gesamterscheinungen des lipämischen Komplexes), so sehen wir, daß erst ein kleiner Teil aller möglichen Fragen in Angriff genommen oder (für den Augenblick) befriedigend gelöst zu sein scheint. Wie wir früher aussprachen und weiter unten sehen werden, sind es nicht nur die Methoden an sich, mit ihrer geringeren oder größeren Leistungsfähigkeit unter mittleren oder extremen Verhältnissen der Mischung normaler oder pathologischer Blutbestandteile, die der Revision bedürfen. Ihre Schlußfolgerungen wurden zum großen Teile auf recht mangelhafte Unterlagen gestellt und beeinflussen damit die den Ergebnissen zuerkannte, innere Bedeutung und ihre Wechselbeziehungen im Komplex. Die Theorie der Mitbeteiligung von Lecithin im Gefüge von Lipämien bedarf der objektiven Feststellung der Möglichkeiten für eine zutreffende Bestimmung im Kreise der Interferenten, vor allem des P-Gebietes. An den bisherigen Verhältnissen beteiligen sich die begrifflichen Grundlagen im selben Sinne. Die Vorarbeiten müssen rein beschreibende sein.

Wie weit sich die tatsächlichen Extreme des Gebietes vom Lecithin spannen, geht aus folgenden schematischen Zahlen hervor. Großes Mittel rd. 220,0 mg für 100 ccm Plasma (bei rd. 700,0 mg Gesamtextrakt aus normalen Konzentrationsverhältnissen sowie normaler Erythrocytenzahl usw.) hohe Norm rd. 300 mg. Oberes Extrem (ohne eigentliche „Lipämie") fast 800,0

---

[1]) Joh. Feigl (Lipämie II), diese Zeitschr. 1918.

[2]) noch unveröffentlicht, nächste Mitteilung diese Zeitschr.

[3]) J. Feigl und J. Neumann,

mg (Ges.-Rückstand rd. 900,0 mg, Befund Feigl bei Tabes) mit mäßigen sonstigen Abartungen. Dasselbe Extrem bei schwerster diabetischer Lipämie rd. 1000,0 mg (Ges.-Rückstand rd. 15,000 mg) mit den entsprechenden Änderungen im Gefüge der Lipämie, im Gebiete des Zuckers usw. Niedrigster Wert bei schwer chronischer Inanition rd. 70,0 mg mit und ohne Hydrämie unter Senkung von Fett, Cholesterin, Zucker usw. Dasselbe Extrem bei Leberatrophie im Spätverlaufe nach folgenden Zahlen.

In hohem akutem Fieber (ca. 8 Tage) 70,0 mg Lecithin bei noch normalem Bestande an Fett usw. (leichte Hydrämie), bei Avitaminose rd. 50,0 mg Lecithin unter weitgehenden Änderungen der Zusammensetzung von Plasma.

Die vorstehende Nennung der Extreme des lipoiden Phosphors unter Bezug auf die sonstigen, z. T. ganz gewaltigen Abartungen in dem kolloiden und krystalloiden Aufbau von Blut und Plasma, sowie der kurze Abriß des pathochemischen Gesamtgebietes illustrieren nun zunächst einen großen Teil der analytischen Aufgabe des Blutlecithins. Dieser, durchweg zunächst die Gewinnung (Isolierung) betreffend, ist zugleich derjenige gewesen, der bis in die jüngste Zeit (1915, 1916) hinein, alle Aufmerksamkeit der Untersucher und Methodologen auf sich vereint. Indes ist bei dem doch, wie mehrfach an Hand der Literatur betont, relativ engen deskriptiven Material volle Genüge den Variationen der analytischen Verhältnisse nicht widerfahren. Es treten nach den Beobachtungen der neuesten Arbeiten andere Gesichtspunkte auf, die über diesen ersten weit hinauswachsen und die zweierlei Art sind. Einmal handelt es sich um die Frage nach der Beständigkeit der gesuchten Stoffe im vorbereitenden Analysengange der Extraktion usw. Ferner tritt hinzu die Rücksicht auf sonstige Komponenten des Vorkommens von Phosphor.

Natur und Aufbau der Fraktion des „Lecithins“. Schematische Wiedergabe.

Bereits vor dieser, weite Bedeutung beanspruchenden, Entwicklung (s. u.) wurde hin und wieder die Frage nach der Art, dem chemischen Charakter, kurz der Zusammensetzung von Typen phosphatider Art gestellt, die in dem rechnerischen Begriff des Lecithins Aufnahme finden. Die Isolierung einer

Fraktion von ätherlöslichem (usw.) P geht voran; ihr folgt die Veraschung und Oxydation zur Phosphorsäure. Diese wird zurückverrechnet auf das (theoretische) Lecithinmolekül. Wie schon früher mehrfach gesagt, hat diese schematische Rechnung nur wenige Untersucher befriedigt. Man wird von vornherein annehmen dürfen, daß die Summe des Plasma „lecithins" eine andere Struktur aufweist bei der Verdauungslipämie (auf verschiedenen Grundlagen), bei Nüchternheit, bei der diabetischen Lipämie usw., schließlich bei der hyperlecithinämischen Lipämie im Gefolge von Lues, bei Tabes und Paralyse usw. Wenn die theoretischen Voraussetzungen für letztere Form in etwa zutreffen, so hätte man ohne Zweifel differente Substanzen (einzeln wie in der Gesamtheit) vor sich gegenüber dem letzten Endes in seiner Bildung doch der Norm nahen Phosphatid bei diabetischer Lipämie. Trotz allen Einwänden ist man großenteils der rechnerischen Formulierung des „Lecithins" aus dem kolloiden, in nicht wässerigen Solventien gewinnbaren P treu geblieben. Wenige Untersucher stellen sich auf den Standpunkt, nur eben diesen (wie immer) erzielten) P als Lipoid-P anzugeben. Das Verfahren, in der Differentialmethodik der P-Verteilung von Greenwald erstmals zu besonderer Bedeutung erhoben, hat vieles für sich, wennschon die Rechnung zum vorausgesetzten Lecithin besondere, weitertragende Bedeutung im Gebiete der lipämischen Systematik hat. Man bedarf der sicheren Anhalte für den Anspruch an die Fettsäuren des Lecithins; man bedarf ferner seiner Verrechnung in den Relationen zu den Gesamtfettsäuren und zum Cholesterin. Für einzelne Fragen ließe sich die Angabe als Lipoid-P empfehlen, für die Unterbringung der Gesamtfettsäuren nur dann, wenn es in analytischen Verhältnissen möglich wäre, das Phosphatidgemenge frei von den wesentlichen Begleitern darzustellen. Die chemische Theorie der Phosphatide beschäftigt uns hier nicht[1]).

Untersuchungen über die Zusammensetzung des Phosphatidgemenges bei gesunden und kranken Seren (aus Blut) und über das Vorkommen und die Verteilung nicht lecithinartiger Typen (andere N- und P-Gruppierungen) sind selten, nicht ohne weiteres auf analytische Verhältnisse über-

---

[1]) Die Anschauungen von Barbieri über die „Nichtexistenz" von Phosphatiden (1909 bis 1917) seien trotzdem erwähnt.

tragbar und zudem keinesfalls voll befriedigend. Wie nun Beumer und Bürger aufgeführt, haben Klein und Dinkin in der Richtung gearbeitet.

Es bleibt sonach für isolierte Angaben (oder solche, die eine Verrechnung der Fettsäuren nicht genau erzielen wollen, z. B. Gesamtfettsäuren, Lipoid-P, Cholesterin und Esteranteil) die unter anderm Greenwald (s. auch Lesser) bevorzugte Formulierung, nur den P des Extraktionsanteiles als solchen zu buchen, ein beachtlicher Vorschlag. Er ist nicht an das Fällungsverfahren gebunden.

Die Errechunng des Lecithins, um, wie erörtert, die phosphatidgebundenen Anteile der Fettsäuren zu fixieren, leidet aus einem noch nicht erwähnten Grunde unter der Ungenauigkeit des Schematisierens. Die Moleküle der Fettsäuren müssen vorausgesetzt werden (s. u. Bloor). Nun läßt sich aus der Literatur belegen, daß Art und Menge der in Betracht kommenden Individuen weitgehend schwanken.

Die Anämiestudien in Hinsicht auf hämolytischem Vorgänge zeigen in bezug auf ungesättigte Körper (mit hoher Jodzahl) eine Anreicherung. Verfasser fand, daß bei Inanition und der unerbittlichen Unterernährung der Kriegszeit die Jodzahl ziemlich häufig fiel — es findet eine Auszehrung des ungesättigten (des labileren) Anteiles statt, und die gesättigten hinterblieben in relativ steigender Menge. Naturgemäß muß rein alimentär, wie viele Experimentalarbeiten erweisen, der Charakter des Serumfettes — eines teilweisen Spiegelbildes des Depotfettes — von dem Nahrungsfett über das Depotfett weitgehend bestimmt werden. Legen wir die auf alimentäre Einflüsse in erster Linie weisende Erklärung der diabetischen Lipämie zugrunde, so gewinnt ein Befund von Feigl Bedeutung[1]). Ein schwerer Diabetiker wurde nach Ausschüttung des größten Anteiles an Blutfett mit Arachisöl als vorwiegender Fettkomponente ernährt. Nach 4 Wochen wurde bei starker Lipämie (rd. 10,0 g Gesamtextrakt für 100 ccm Plasma) kurz ante exitum eine Untersuchung gemacht. Es wurden fast 8 °/₀ des Fettsäuregemenges von Arachinsäure isoliert. Bei dem mitgesteigertem Lecithin, das unter Bereitstellung des Nahrungsfettes synthetisiert wurde, kann die gleiche Säure vorausgesetzt werden. Wenn es ferner eine Loslösung von Organphosphatiden (wenigstens zum Teil) in ungespaltener Form gibt, so ist evtl. mit dem Übertritt der Typen zu rechnen, die S. Fränkel in großen und mühevollen Arbeiten isoliert und charakterisiert hat. In diesen würden höhere ungesättigte Säuren sowie u. a. die Myristinsäure eine Rolle spielen. Die bei Destruktionen des Zentralnervensystems durch anatomischen Abbau (und Ersatz durch Glyceride, später durch steigenden Wassergehalt) losgelösten Lipoide würden auch in Hinsicht der Fettsäuren andere Eigenschaften haben.

[1]) Noch unveröffentlicht, zu Lipämieuntersuchungen gehörig.

Es ist sonach die Errechnung des Fettsäureanteils eine nur angenährte; indes ist die Verwendung schematischer Mittelwerte für den Analysengang von Bloor zunächst der einzig gangbare und praktisch wohl auch zumeist befriedigende Weg (s. u.). Übrigens gilt die gleiche Voraussetzung für die Esterquote des Gesamtcholesterins. Die Rechnung betrifft am nachdrücklichsten die „Restfettsäuren", die Basis des Neutralfettes im Plasma.

Auch des eben skizzierten Fehlers entbehrt die Angabe der Phosphatide als Lipoid-P. Er wird in den Kauf genommen von der Verrechnung nach Bloor. Naturgemäß hat die richtige Erfassung und Wiedergabe der Phosphatide von Körperchen, Vollblut und Serum neben den erörterten Beziehungen Bedeutung für den ihnen innewohnenden N-gehalt.

Dieser ist durch Greenwald andeutungsweise und durch Feigl in breiteren Hinweisen gewissen methodischen Voraussetzungen des Rest-N-Gebietes (Enteiweißung und Isolierung durch lipoidlösende Gemische) unterstellt worden[1]). Es ergab sich ein mittelbares Interesse an ihm und der große Einfluß auf Rest-N-Zahlen[2]).

Untersuchungsplan.

Die Einflüsse, die die Verhältnisse der Analyse und die pathologische Bewertung der Blutphosphatide weitgehend beeinflußten und, wie der nähere Einblick lehren wird, in neue Bahnen lenkten, sind in den Grundzügen die folgenden. An sie knüpfen sich vergleichende Ermittelungen.

A. Eingehende Feststellung, Kritik der älteren Angaben, Begründung und Erörterung zu den Verhältnissen der Phosphorverteilung im Serum (Bloor, Feigl, Greenwald). Die Frage umfaßt die Auffindung des säurelöslichen Phosphors (Greenwald), breitere Untersuchung und pathochemische Beschreibung derselben (Feigl); Auffindung des Restphosphors, Beschreibung, Verhalten, Variationen desselben (Feigl). Die Frage berücksichtigt ferner den „proteingebundenen" Phosphor (Greenwald).

B. Vergleichende Beobachtungen über Genauigkeit der Phosphatidanalyse, Äußerung über Objektivität der Werte, über sekundäre Umwandlungen der gesuchten Stoffe in gewissen

---

[1]) J. Feigl, l. c. Phosphate I, 1917. Ders. (Neue Beiträge zum R.-N.), Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmokol. VII. Mitt. 1918.

[2]) Einzelheiten z. T. noch unveröffentlicht.

Analysenverfahren. Vergleichende Kritik bisheriger Ergebnisse (Bloor, Greenwald).

Vorläufige Angaben und Beobachtungen über Lipoid-P-Zahlen, erhalten durch Extraktion und Fällung nach den neuen Methoden, Vergleich dieser (Feigl).

C. Umfassende Beobachtungen an weitgehend differenten pathologischen Materialien (Feigl). Normalien (Feigl). Übersicht über Normalien und über pathologische Blutarten (ohne nähere klinische Bezeichnung) (Bloor).

Lipoidphosphor bei Gesunden und Kranken (Greenwald, Feigl).

D. Vorläufige Stellungnahme zu den (erstmaligen) Angaben über den Nichtlipoid-P und Abschätzung der Extraktions-Enteiweißungsmethodik in ihrem Verhalten zu Phosphat (Bloor).

Die obigen Voraussetzungen haben wir, besonders soweit sie ohne nähere Deutung bruchstückweise anderen Ortes mit gewissen Beobachtungen gestreift wurden, im einzelnen abzuhandeln. Die wesentlichen, bisher nur andeutungsweise dem Versuch einer Klarstellung unterworfenen Angelegenheiten liegen in dem direkten Vergleiche älterer mit den neuen Methoden und in der Diskussion der erhaltenen Werte. Ebenso wichtig, wenn nicht wesentlicher, ist die Beurteilung der Fragen nach der Interferenz des nichtlipoiden Phosphors in der Alkoholätherextraktionsmethodik von Bloor, in älteren Verfahren, sowie nach den sekundären Veränderungen der Phosphatide im frischen Serum während gewisser vorbereitender Manipulationen oder beim Stehen. Auf den ersten Punkt zielt u. a. der Vergleich von Zahlenwerten nach Bloor einerseits, nach Greenwald andrerseits. Wenn im zweiten Analysengange die Ausschaltung des krystalloiden säurelöslichen Phosphors (mit Orthophosphat und Restphosphor) Tatsache ist (was für ersteres doch wohl erst zu beweisen sein dürfte), so ist dies Ergebnis nach Greenwald mit der Anteilnahme des neu benannten, kaum geklärten, proteingebundenen Phosphors belastet.

Die Maßstäbe der heutigen Untersuchungsmethoden sind durchaus mikrochemischer Art. Sie sind gerade zum Zwecke größerer Anwendbarkeit entworfen. Diese wiederum kommt in jeder Weise der Absicht einer Förderung einschlä-

giger Fragen entgegen. Die Vergrößerung der Ausführungen bis in (engere) makrochemische Maßstäbe hinein ist möglich. Die analytischen und methodischen Grundlagen bzw. die tatsächlichen Verfahren des vorliegenden Gebietes sind ihrerseits die folgenden. Es handelt sich um durchgearbeitete, erstmalig vorgeschlagene, angedeutete, übernommene und etwa noch denkbare Prinzipien.

Sie beruhen auf der Kenntnis von Leistung und Anwendbarkeit mikrochemischer Bestimmungsmethoden des Orthophosphations. Diese wiederum bestehen

I.

a) in einer Übertragung der Acidimetrie nach Neumann auf einen kleinen Maßstab (Taylor und Miller);

b) in der gravimetrischen Verwertung der (primären) Fällung des Phosphormolybdates als Bleimolybdat (Ibbotson und Brearley, Raper);

c) in der Herstellung des Phosphormolybdates und seiner anschließenden Reduktion zu Molybdänblau. Letztere wird durch Phenylhydrazin oder durch Hydrazin bewirkt. Die Bestimmung erfolgt colorimetrisch (Taylor und Miller, Riegler);

d) in der älteren Methodik einer direkten Colorimetrie des Phosphormolybdates (Jolles);

e) in der gleichfalls colorimetrisch durchgeführten Vanadinmethodik (Misson);

f) in der Erzeugung von Silberphosphat; Bestimmung nephelometrisch (Bloor);

g) in der Erzeugung des komplexen Strychninphosphormolybdates, Bestimmung nephelometrisch (Pouget und Chouchak, Greenwald, Kober u. a.);

h) in der Isolierung und Colorimetrie des dem PMo-Komplexe angehörenden Ammoniaks (Kleinmann).

Besondere Bedeutung nehmen derzeit in Anspruch in erster Linie die unter If und Ig genannten nephelometrischen Methoden. Von diesen ist Ig zur fast alleinigen Herrschaft gelangt (s. u.). In zweiter Linie stehen die auf Colorimetrie hinauslaufenden Verfahren Ic und Ie. Es kommt ferner noch Ib in Frage. Die übrigen entfernen sich zumeist weit von den für Serum gegebenen Verhältnissen der echten Mikrochemie; auch ist ihre Handhabung nicht so einfach. An der Spitze steht, zumeist wohl, weil von wenigen Untersuchern (s. u.) energisch betätigt, die nephelometrische Strychninphosphormolybdatmethode.

II.

Obige Verfahren sind zumeist auf (anorganische) PO_4-Ionen zugeschnitten. Die Methodologie sieht im gleichen Grade auf Vorbereitung der Seren und Gewinnung der Fraktion des in wasserfreien Mitteln leicht löslichen Phosphatidphosphors. Wir berücksichtigen folgende typischen Verfahren:

1. Die ältere Arbeitsweise ist vertreten durch
   a) primäre Alkoholfällung und Extraktion des Niederschlages, Aufarbeitung des vereinten Extraktionsgutes;
   b) Trocknung von Serum im Vakuum α) mit indifferenten (anorganischen) Beimischungen, β) durch Adsorption in Cellulose oder Baumwolle (Gettler und Baker);
   c) Wasserbindung mit trockenem Natriumsulfat (S. Fränkel, Klein und Dinkin).
2. Die modernen (mikrochemischen) Aufarbeitungen sind
   a) Eiweißfällung und Extraktion in einer Manipulation durch siedenden Alkoholäther nach Bloor (s. u.);
   b) Eiweißfällung durch wässerige Pikrinsäure, Adsorption der Lipoide im Koagulat, Trennung des krystalloiden Phosphors (Greenwald). Evtl. Modifikationen.

Nachdem die älteren Verfahren mehrfach (auch in jüngeren Arbeiten) beschrieben und charakterisiert sind, erörtern wir kurz die neuartigen (Bloor, Greenwald) Aufarbeitungsmethoden mit den für sie geeigneten Aufschließungen und Bestimmungen der Phosphorsäure gemeinsam. In der Praxis sind bisher keine derselben zur ausschließlichen Herrschaft gelangt. Der wasserlöslichen Phosphatide (Beumer und Bürger) ist besonders zu gedenken.

Die Grundlage unserer Mitteilung, welche sie in den Kreis der Arbeiten über Phosphate und Phosphorverteilung im Serum einordnet, ist die für die gesamte vorliegende Frage neuartige, ihr z. T. andere Richtung gebende Auffindung krystalloiden Phosphors neben solchem in lipoider Bindung.

Krystalloider Phosphor.

Die Entwicklung der Kenntnisse über diese (ihrerseits komplexe) Fraktion des Gesamtphosphors ist in kurzen Zügen die folgende.

Gürber arbeitete (1894/1895) in umfangreichem Maßstabe über die Dialyse von Blut und Serum. Seine Ergebnisse weisen auf höchstens spurenweises Vorkommen oder geradezu auf Fehlen von Phosphaten.

Taylor und Miller, die bereits auf dem Fuße feinerer Arbeitsmethoden standen, berichteten (1914), daß im Serum höchstens Spuren von anorganischen Phosphaten anzutreffen seien, die „kaum ausreichten, um eine eindeutige qualitative Probe zu liefern". Greenwald zitiert die Äußerung der Autoren (1915) so, daß sie die Anwesenheit geleugnet hätten. Die Urteile über die „Phosphate" im Serum sind abhängig von der Feinheit der Methoden und daher nur durch deren Kritik verständlich (s. die mikrochemischen Nachweise und ihre Reichweite).

Greenwald hat in einigen älteren Mitteilungen (1913, 1914) festgestellt, daß die Phosphorverteilung im Serum lipoiden, säurelöslichen (wahrscheinlich anorganischen) und proteingebundenen P umfasse. Er trat (1915) mit einer neuen Untersuchungsreihe hervor, die Methodik (s. u.), beschreibende Konstanten (s. u.) und Diskussion der P-Verteilung umfaßt. Der nichtlipoide (ebenso der spurenweise vertretene wohl proteinoide) P wird durch Eiweißfällung (s. u.) isoliert. Der angewandte Nachweis (Nephelometrie, s. u.) ist fein genug zur zweifelsfreien Erkennung und zur exakten Bestimmung. Es erscheint neben dem fällbaren eine nicht fällbare P-Fraktion. Dieselbe wird durch andersartige Aufarbeitung erhärtet, so daß der „anorganische" P richtig gestellt scheint. Greenwald benennt ihn ausdrücklich „säurelöslich" und deutet damit seine Gewinnbarkeit an. Im Anschluß an das (ältere) Urteil von Taylor und Miller sagt Greenwald, daß dieser P nur als anorganischer in Betracht komme oder als naher Verwandter, Glycerophosphat oder Inosinsalz. Letzteres wird vorläufig (nicht vollbefriedigend) abgelehnt. Der säurelösliche P erscheint in Mengen zwischen 2,0 mg und 6,0 mg in 100 ccm Serum. Seine alimentären Schwankungen und pathologischen Umstimmungen werden kurz angedeutet.

Diese Untersuchungen wurden — übrigens hat seither in Deutschland niemand Stellung genommen — sofort nach dem ersten Bericht von Feigl in Angriff genommen und ausgebaut. Die Norm erstreckt sich von 1,0 mg bis 5,0 mg, in Krankheiten dürfte die Höchstzahl an fast 30,0 mg zu suchen sein. Die Methode (s. u.) wurde durchgearbeitet und fortlaufend verbessert; die ersten Ergebnisse Greenwalds wurden erweitert, für ihre Sonderfragen geprüft, strenger formuliert und nach ihrer Realität bestätigt. Bald ergab sich die Frage nach dem Wesen des säurelöslichen (nicht fällbaren) Krystalloid-(Gesamt-)Phosphors, die Feigl anschließend bearbeitete. Unabhängig davon trat Greenwald dem Problem in methodischen Versuchen näher. Es ergab sich nach den Reihenversuchen am Menschen (Feigl), daß in der Norm der säurelösliche Phosphor im Mittel rd. 12 % bis 15 % Orthophospat-P enthielte. In gewissem Sinne konnten die (wenigen) Zahlen an Tierblut von Greenwald ebenso gedeutet werden.

Marriott, Häßler, Howland traten später speziell dem Orthophosphat-P näher; sie nennen Mengen von rd. 1,0 bis 3,0 mg P für 100 ccm Serum. Die genannten Ergebnisse standen im prinzipiellen Einklang. Die Methode war differential gestaltet (s. u.) und stellte den „Restphosphor“ (Feigl) als Differenz dar. Feigl beschrieb die Phosphatämie für Norm, für Arbeitsleistung, Fieber, Infektionen, Avitaminosen, Nephritis u. a., nachdem die infektiöse Lagererkrankung mit Inanition den Ausgang gebildet hatte. Der als Differenz berechnete Restphosphor erwies sich seinerseits als variabel und von bestimmten Krankheiten abhängig, er kann auf fast 6,0 mg P steigen. Feigl und Luce beschrieben die Leberatrophie (Reihen); Feigl belegte Avitaminosen, Nierensklerose (chronische Nephritis) Muskelkrankheiten, Lues, Tabes, Paralyse mit hohen (übernormalen) Zahlen. Auch differential (Nierenleiden) verspricht die Frage von Bedeutung zu werden. Damit waren der Umfang des Vorkommens von krystalloidem P (als säurelöslichem P), seine Schwankungen und sein Verhalten gekennzeichnet. Mehr noch, es war sein Wesen und seine Struktur durch Variation und Erscheinung des Restphosphors beschrieben. Die Realität war analytisch erhärtet. Der Beweis für die direkte Darstellbarkeit wurde später geliefert (Feigl). Bloor hat (1916) fußend auf denen Greenwalds, einige kritische Versuche hinsichtlich der Reichweite seiner Extraktionsmethodik über den nicht lipoiden Phosphor angestellt (s. u.). Wasserlösliche Phosphatide s. sp.

Aus diesen Befunden ergibt sich also, daß nicht nur „Phosphate“ (des geschilderten Verhaltens) und sonstige (Komplexe) P-Verbindungen im Serum vorkommen, sondern daß diese Größen zunächst innerhalb gewisser Methoden weitgehenden Variationen nach der Menge des P und nach ihrem Wechselverhalten unterworfen sind. Da nun diese Variationen keinesfalls proportional dem nicht krystalloiden (Lipoid-P) laufen, vielmehr sie oft, wenn nicht stets, reziprok vorliegen, so müssen sie weitgehenden Einfluß nehmen können auf (gewisse Gestaltungen der) Lipoidbestimmung.

Übrigens ist in der Theorie des krystalloiden P (was für die Frage der Bedeutung und der Wiedergabe des Lipoid-P von Interesse sein muß) gesagt worden, daß es nicht durchaus feststeht, ob (mindestens ein Teil der fraglichen Größe) der sekundären Einwirkung von Pikrinessigsäure (s. u.) oder des Reagensgemisches zur Fällung von Orthophosphat seine Entstehung verdanke. Endlich ist der chemische Charakter der Rest-P-Gruppe nur insofern festgelegt, als bekannt ist, daß die ihr angehörenden Stoffe von der Fällung des P_1O_5-Ions nicht mit erfaßt werden.

Fällbarer, nichtlipoider Phosphor.

Greenwald hat, was ferner für die Frage der P-Verteilung von Bedeutung ist, schon vor 1915 gezeigt und 1915 nochmals diskutiert, daß außer dem lipoiden P und dem säurelöslichen P eine Fraktion vorhanden und mit ersterem durch die Fällung zusammengezogen sei, nämlich der proteingebundene P.

Wie dem auch sei, seine Größe ist im mikrochemischen Gange bisher nicht selbständig aufgetreten und einstweilen im Niederschlage nicht weiter der Klärung zugänglich; doch ist eins mit Sicherheit anzunehmen, daß auch dieser Teil mehrdeutig ist. Zunächst ist in der Trennung durch Fällung nur einbegriffen, daß der fällbare Lipoid-P von einem gleichfalls fällbaren nichtlipoiden P begleitet sei. Besteht er nun in proteinartigen Gebilden, so dürfen diese unter verschiedenen Erscheinungen pathologischer Art wandelbar sein. Wir haben, was später zu belegen sein wird, den Eindruck gewonnen, daß bei Leukämien usw. diese Fraktion nach oben geartet ist usw. Ferner haben wir die Meinung, daß die Gegenüberstellung von Extraktion und Fällung mit ihren Lipoidwerten — im Beihalt des säurelöslichen P — eine Deutung in der Richtung des lipoiden fällbaren P in einzelnen Fällen zulasse, zu vertreten. Mittelstellung löslicher Lipoide.

Diese Fragen der P-Verteilung sind in den mehr methodischen Versuchen von Klein und Dinkin — ohne Gewähr für Objektivität der Zahlen und ohne jeden direkten Nutzen für die beschreibende Kenntnis der Frage — einmal angeschnitten und kurz gestreift worden. Ihre sonstigen Beziehungen in der derzeitigen Arbeit sind durch die Isolierungen des Lipoid-P weitgehender getrübt, als daß man irgendwelche bindenden Schlüsse zu ziehen vermöchte.

Nach obigem spielen die Einflüsse der genannten Interferenten in die Ergebnisse der Methoden hinein. Wie die nicht fällbaren Komponenten dem durch Fällung erzielten Lipoidgemenge prinzipiell entzogen sind, so müssen sie bei den Alkoholmethoden usw. weitgehend berücksichtigt werden (s. u.). Die fällbaren, nichtphosphatidischen P-Anteile stoßen in der Fällung als Zuwachs zum Lipoid-P und dürften, jedenfalls teilweise, in den anderen Kreisen dem Extrakte vorenthalten sein. Beide Methoden sind also in den wichtigen Interferenten Gegenspieler.

Lipoider Phosphor („Lecithin“).

Durchmustert man die gesamte Literatur nach Ergebnissen über den phosphatiden P des menschlichen Blutserums, so ist

das zu Vergleichen taugliche Material, ganz abgesehen von der keineswegs hohen Gesamtzahl stichhaltiger Beobachtungen überhaupt, ein relativ sehr enges. Diese Tatsache findet man insbesondere bezüglich der Norm, aber es gilt auch das gleiche von Befunden pathologischer Art, die einen immerhin reichlicheren Raum einnehmen. Bis zur Publikation der Methoden von Greenwald (1915) und von Bloor (1916) sind es wenige Mitteilungen, die zumeist direkt auf bestimmte Krankheiten zu zielen beabsichtigen, und die der Pflege der Normalien kaum genügende Aufmerksamkeit widmen. Überdies zieht sich von dem genannten Zeitpunkte eine scharf markierte Schwelle durch die Beobachtungen; die diesseitigen Zahlen sind weit höher, trotzdem sie auf Unterlagen fußen, welche die Kenntnis von krystalloidem P verwerteten und die den Anschluß dieses fremden Anteils bewußt erstrebten. Diese neuen Befunde existieren nur aus den Händen der genannten Methodologen. M. W. haben überhaupt mit Sicherheit in Deutschland usw. weder Methodologen noch andere Untersucher, die die rein praktische Anwendung der Verfahren und die mittelbare Benutzung der neuen Ergebnisse im Auge hätten, sich des Wandels unserer Kenntnisse im Gebiete der Lecithinämie (damit der Lipämie überhaupt) angenommen. Die Bedeutung dieser Neuorientierung ist in analytischer wie beschreibender (physiologischer und pathologischer) Hinsicht gleich hoch. Die Anwendbarkeit der Verfahren ist, wenn bestimmte Voraussetzungen erfüllt sind, hoch. Die Überprüfung aller Abschnitte, spez. also der Lecithinwerte in Abhängigkeit von heterologem P ist dringend notwendig. Aus diesen Ursachen hat Verfasser seit 1915 auf dem Gebiete gearbeitet und die einschlägigen Ergebnisse (P-Verteilung im Serum, Methodologie, Lipämieproblem) früher mitgeteilt. Die Lecithinfrage, sowie sie sich methodisch und beschreibend als neu geordnetes Gebiet darstellt, ist bisher nicht behandelt worden. Eine solche Erörterung bedurfte der erwähnten Voruntersuchungen; sie neigt zur vergleichenden Kritik beider analytischen Richtungen.

Wir beziehen uns an dieser Stelle auf die in früheren Mitteilungen genannten und charakterisierten Ergebnisse von Peritz[1]), von Born-

---

[1]) G. Peritz, Ztschr. f. exp. Path. u. Therap. 5, 607, 1908/09.

stein[1]), von Beumer und Bürger[2]), von Stepp und Kimura[3]), von Klein und Dinkin[4]), von Lesser und von Meyer und Schäffer[5]). Zu diesen treten die neueren Beobachtungen von Taylor und Miller[6]). Diesen Befunden, die im großen ganzen einem Niveau (Methodik und Höhe der Zahlen s. a. Lesser) entsprechen, rücken gegenüber die von Greenwald[7]) einerseits, von Bloor[8]) andererseits und die seit 1915 von Feigl[9]) nach beiden Verfahren erzielten Resultate. Unter den älteren Arbeiten nehmen die von Lesser, gemessen an den heutigen Erfahrungen, die erste Stelle ein. Sie sind von den älteren Untersuchungen diejenigen, die zureichende Zahlen erzielten und die demnach den (inzwischen festgestellten) Tatsachen gegenüberzustellen sind. Die Abstände in den faktischen Normalien, welche nach dem großen Mittel (allgemeiner Durchschnitt) und den Extremen beurteilt werden, sind zum Teil ganz erheblich, so daß sowohl für die Norm, wie für pathologische Verhältnisse ganz beträchtliche Trübungen der wirklichen Zahlen möglich sind. Darüber hinaus ist ferner anzunehmen, daß die Einflüsse des Defizits, der Interferenten (s. u.) nicht proportional gewesen und geblieben sind, so daß einzelne (besonders abwegig geartete) Befunde ganz außer der Reihe stehen dürften.

Greenwald, der 1915 den krystalloiden (säurelöslichen) P auffand, wundert sich über den Abstand seiner beträchtlich höheren Zahlen gegen die älteren obiger Untersucher, Lesser, Bornstein, Peritz u. a. Lessers Durchschnitt, etwas unter 9,0 mg Lipoid-P für 100 ccm Serum, ist nun rd. 10% niedriger als der von Greenwald mit rd. 10,0 mg. Greenwald fand nur selten Zahlen unter 7,0 mg, Lesser solche in einer Breite von 33%. Gegen Lessers wichtige Arbeit treten die Zahlen von Bornstein usw., wie früher belegt, weiter zurück. Taylor und Miller, welche 4,0 bis 6,0 mg angaben, stellten später (betr. die Höhe dieser Befunde) fest, daß unvollständige Extraktion vorausgesetzt werden dürfe. Die Zahlen von Greenwald fallen zwischen 7,0 mg und

---

[1]) A. Bornstein, Monatsschr. f. Psych. u. Neurol. 25, 160, 1909; Ztschr. d. ges. Neurol. Psychiat. 6, 605, 1911.

[2]) H. Beumer und M. Bürger, Ztschr. f. exp. Path. u. Therap. 13, 343, 1913; diese Zeitschr. 56, 446, 1913.

[3]) H. Stepp und N. Kimura, Deutsch. Arch. f. klin. Med.

[4]) W. Klein u. L. Dinkin, Ztschr. f. physiol. Chem. 92, 302, 1914.

[5]) F. Lesser, Arch. f. dermat. Syphil. 113, 609, 1912.

[6]) A. E. Taylor und C. W. Miller, l. c. (erste Mittlg.) Journ. f. biol. Chem. 18, 214, 1914.

[7]) J. Greenwald, (1. Mittlg.) Jour. biol. Chem. 12, 29, 1915, sowie Vortrag Soc. Exp. Biol. Med. 1, 20, 1915; Proceedings 12, 71, 1915.

[8]) W. R. Bloor (Lipoide im Blute), Literar.-method. Zusammenfassung mit breiten Analysen (der Normalien) Journ. biol. Chem. 25, 577, 1916.

[9]) J. Feigl (Lipämien II), diese Ztschr. 1908, 85, 53 u. die folgenden Abhandlungen.

13,0 mg (selten Senkung auf 5,0 mg). Die nach diesem Verfahren gewonnenen Zahlen von Feigl reichen für die Norm bei befriedigend ernährten Menschen bis rd. 12,0 mg. Das Verfahren wurde auch in der Frage der herabgedrückten Normalien im Verlaufe der eingeschränkten Ernährung der (späteren) Kriegszeit verwandt (s. u.).

Bloor, dem wir einen Kreis ausgezeichneter, durchweg neuartiger Methoden zur Untersuchung des gesamten Lipämiekomplexes verdanken, (sie sind ganz besonders zu häufiger Anwendung geeignet und daher außerordentlich wertvoll), schrieb 1915 in der Einführung zu seiner (älteren) Lecithinbestimmung (s. u.), daß es (in erster Linie bezüglich eines mikrochemischen Maßstabes) an einer prompten und zuverlässigen Methode fehle, die mit genügender Genauigkeit (unter 5 % Fehler) Lecithin zu bestimmen gestatte. Er ging aus von der Leistung mikrochemischer P_2O_5-Ermittelungen und wandte sich besonders der Nephelometrie zu. 1916 berichtete Bloor, daß seine Methode Werte gebe, die in der Größenordnung denen nach Greenwald nahestanden, mithin die nach allen älteren Untersuchungen überragen. Nach seinem Modus umgerechnet, gab er Lecithinzahlen an, die für Serum auf 260,0 mg steigen können bei Durchschnitten von rd. 200,0 mg. Feigl fand später (s. u.), daß die obere Schwelle der (strengen) Norm gut untersuchter Gesunder bei Nüchternheit bis auf fast 300,0 steigen könne und daß der Fußpunkt um 170,0 mg zu suchen sei.

Nähere Angaben über die erhaltenen Werte folgen im beschreibenden Teile.

Neue Methoden. A.

Isolierung des lipoiden Phosphors.

Greenwald beschreibt seine Methode folgendermaßen. Wir führen sie bis Beendigung der Isolierung bzw. zur Mineralisierung des Extraktes.

1,0 ccm blutfreies (!) Serum wird langsam in ein genaues Maßgefäß von 10,0 ccm Inhalt, das 8,0 ccm Pikrinessigsäure enthält, aus der Pipette eingetragen. Es wird mit dem Reagens auf 10,0 ccm aufgefüllt. Nach energischem Schütteln und ruhigem Stehen (2 St.) wird durch ein Schwarzbandfilter (5,5 cm, s. S. 589) filtriert. Man hat so die Trennung beider Fraktionen vollzogen. Die Anteile werden getrennt, wie folgt, im Sinne der Neumannschen Säuregemischveraschung aufgearbeitet. Das (zur Berechnung) gemessene Filtrat wird im Jena-Reagensglase (200 mm × 20 m) unter Zusatz kleiner Glasperlen auf ca. 1,0 ccm eingekocht. Dann wird 1,0 ccm reine konz. Schwefelsäure beigefügt und die Mischung energisch zur völligen Vertreibung der Pikrinsäure gekocht, wobei auch der Hals zu erwärmen ist. Die Veraschung wird mit wenigen Tropfen konz. Salpetersäure (nach Bedarf) durchgeführt. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit dest. Wasser auf rd. 10 ccm, neutralisiert nahezu mit 10%iger Natriumhydroxydlösung und füllt auf. Man kann zu 50,0 ccm

in Meßgeräten verdünnen. Zur Bestimmung (s. u.) braucht man dann 10,0 ccm oder 20,0 ccm. Die (etwas umständlichere) Veraschung von Fällung (und Filter) geschieht entsprechend.

Bei der Beendigung auf nephelometrischem Wege, die vom Instrument und den Reagenzien, auch weitgehend von der Übung abhängt, hat man mit rd. ± 2,0% Fehler zu rechnen. Die unmittelbar benutzten Stoffe müssen sorgfältig ausgewählte, analysenreine Marken sein. Über die Bestimmung selbst sprechen wir unten. Die Pikrinessigsäure besteht aus 0,5 g Pikrinsäure in 1,0%iger Essigsäure. Die Mengenverhältnisse der Fällung (1 Serum + 9 Reagens) können unter gewissen Umständen (makrochemischer Maßstab, reduziertes Volumen) sinngemäß variiert werden[1]). Es kann zuzeiten wünschenswert und förderlich sein, das fast ausnahmslos blanke und durch längeres Stehen kaum geschädigte Filtrat mit Glaspulver nachzuklären. Sehr wichtig ist die Entfernung der Pikrinsäure. Ein Luftbad aus Asbest mit Ringheizung und ziemlich dicht eingepaßten Veraschungsgläsern hat sich dem Verfasser sehr bewährt. Entscheidend ist die Entfernung der roten Blutkörperchen. Die Phosphate der Zellen können die betr. Zahlenwerte völlig entwerten. Die Serumgerinnung hat vorsichtig und völlig zu geschehen (freiwillige Contraction des Blutkuchens). Zur Prüfung bedient man sich des Spektroskops, das (Nernstlicht, Gitterapparate, zuverlässige Tröge) in 5,0 ccm Schicht keine O_2-Hb-Streifen zeigen darf[2]). Wie Verfasser früher sagte, könnte es zweifelhaft sein, ob bilirubinämische, hämatonämische usw. Sera zu verwenden sind. Verfasser ist derzeit (und heute) der Ansicht, daß dieses geschehen kann und darf, bzw. soll[3]). Die schematisierten Mittelwerte der Methode weisen auf rd. 10,0 mg fällbaren P („Lipoid-P"), s. u., und auf rd. 3,0 mg säurelöslichen P („Orthophosphat-P und Rest-P", s. o.). Die Extreme wurden oben erwähnt. Zugesetzte Phosphate wurden, ebenso in Serum wie in künstlichen Gemischen (Feigl) wiedergewonnen[4]). Die Verwendung anderer Fällungsmittel wurde von Feigl in Betracht gezogen. Wie früher erwähnt, läßt sich Trichloressig [5% wäßrig[5])] oder dgl. Sulfosalicylsäure[6]) verwenden[5]). Diese Reagenzien wurden (später) von Lyman[7]) zur Analyse des Blutkalkes und von Kober und Groves zur Isolierung der Blutpurine benutzt. Ersteres hat durch Greenwald große Bedeutung als Ent-

---

[1]) J. Greenwald (Natur des Säurelösl. P) Journ. f. Biol. Chem. **25**, 431, 1916. J. Feigl (Phosphate V), diese Zeitschr. **1918**.

[2]) J. Feigl (Vorkommen von Hämatin I und II), diese Zeitschr. **1918**, dort älteste Lit.

[3]) J. Feigl (Phosphate I), diese Zeitschr. **1917**.

[4]) J. Greenwald, l. c. **1915**.

[5]) R.-N-Gebiet (Greenwald, Feigl).

[6]) P. A. Kober und S. Graves, Journ. f. Americ. Chem. Soc. **37**, 3240, 1915.

[7]) H. Lyman (Schnelle Ca-Best. im Blut) Journ. of Biol. Chem. **29**, 169, 1917 (Ca-Nephelometrie im Serum, ebda. 21).

reißungsmittel für R.-N erlangt und sich nach Feigl hierbei in jeder Beziehung bewährt.

Beurteilung. Die Methode, die m. E. weder nachgeprüft noch (in Deutschland) anderweitig benutzt worden ist, hat sich dem Verfasser (Feigl) seit 1915, teils für sich, teils in Verbindung mit den übrigen Verfahren der Darstellung der P-Verteilung im Blute, immer bewährt. Sie hängt indes weitgehend von den Verhältnissen der anschließenden Nephelometrie ab (Reagenzien, Instrument, Fertigkeit); sie ist sehr geeignet zu Reihenuntersuchungen; sie setzt sehr gute Reagenzien und Hilfsmittel sowie Geschick voraus. Die Zeitdauer einer Einzelanalyse (mit Einschluß genügenden Stehens nach der Fällung) dürfte im besten Falle 4 Stunden, im ungünstigsten (bei Nachklärung) 6 Stunden nicht überschreiten, die unmittelbare Handhabung fast 1 Stunde. Zusammengehalten mit der Möglichkeit breiter Anwendbarkeit, mit dem mikrochemischen Maßstabe und dem relativ sehr geringen Fehler ist sie preiswert und den älteren Methoden gewaltig überlegen. Sie wächst gegen diese unverhältnismäßig (auch gegen die folgend zu beschreibende von Bloor) durch die Differenzialanalyse der P-Verteilung und hat durch die Gewinnung des säurelöslichen P (Verfolg zum Rest-P) einen weiteren (evtl. selbständigen) Wert.

Bloor beschreibt bis zur Vollendung der Isolierung und Mineralisierung des gesuchten Lipoid-P sein Verfahren als Teil des Systems von Analysen über den Lipämiekomplex folgendermaßen[1]).

Die wünschenswerte mikrochemische Analyse von Blutphosphatiden usw. hängt ab von der Leistungsfähigkeit der derzeit besten Analysen der Phosphorsäure (s. o.), von der Handhabung des Nephelometers für die als feinste erwiesene Methodik und von der Isolierung aus Blut oder Serum. Entsprechend der Eiweißfällung und Extraktion durch Alkoholäther, wie nach Bloor für Gesamtfett usw. vorgeschlagen, werden 3,0 ccm Blut oder Serum aus der Pipette langsam und vorsichtig tropfenweise in ein Gemisch von Alkoholäther (3 + 1, beide absolut und sorgfältig gereinigt) eingetragen. Das Gemisch wird unterdes dauernd lebhaft bewegt und fast bis zum Sieden erwärmt, dann noch zum Aufsieden gebracht, verschlossen, energisch geschüttelt, gekühlt, aufgefüllt. Damit ist die Isolierung beendet. Dies Produkt ist stets klar und haltbar. Zur Veraschung entnimmt man 10,0 bis 25,0 ccm Alkoholätherextrakt (mit rd. 1,2 mg „Lecithin" entsprechend 0,15 mg H_3PO_4) in ein weites Jena-Reagensglas von 200 mm × 25 mm. Ein paar kleine Glasperlen werden beigefügt; durch Einsenken in ein Wasserbad (unter vorsichtiger Beobachtung) eingedunstet; weitere 15 Min. zur Entfernung von Alkohol erwärmt und mit 1,5 ccm Neumannschem Säuregemisch verascht. Man bedient sich eines Apparates nach Folin und führt — so schreibt Bloor — den Aufschluß unter gewissen Kunstgriffen in 2 Stufen aus

[1]) W. R. Bloor (Lec.-Best.), l. c. 1915.

(Neigung des Rohres, langsamer Beginn). Nach vorübergehendem Abkühlen setzt man 2 Tropfen 0,25 %ige Rohrzuckerlösung zu, wodurch die teils an Phosphorsäure gebundenen Reste von Salpetersäure (schädlich für die Silberphosphatnephelometrie) bei weiterem Kochen zerstört werden. Endlich nimmt man nach Abkühlen in 3,0 ccm Wasser auf.

Bei der schließlichen Bestimmung durch Nephelometrie hat man mit rd. $\pm$ 3 % Fehler zu rechnen. Dieser Fehler verschiebt sich nach Art des betr. Materiales. Serum stellt sich am günstigsten; er ist hier wohl ähnlich, wie bei der Cholesterinbestimmung (Feigl und Neumann).

Beurteilung. Die Reagenzien spielen eine große Rolle. Als Extraktionsmittel kommen nur bestgereinigter Alkohol und dgl. Äther (trocken!) in Frage. Die Mengenverhältnisse dürfen nur nach einer Richtung (Minderung des Blutes) variiert werden. Die Filtrate müssen klar und blank sein. Die Fällung muß in der Hitze, in kleinsten, unterbrochenen Tropfenfolgen, bewirkt und das zuerst entstandene Gerinnsel durch energisches Schütteln mehrfach zerkleinert werden. Die Veraschung erfolge im Sandbade. Die nachträgliche Entfernung von Salpetersäureresten hat für das Strychninphosphormolybdat kaum Bedeutung. Die zweistufige nasse Verbrennung nach Bloor ist durchaus nützlich. Die Verarbeitung cholämischer, bilirubinämischer (hämatogenes Bil.), hydrämischer, hyperglykämischer, azotämischer, hämatinämischer usw. Sera bietet nur ganz oberflächliche Schwierigkeiten. Der für die Cholesterinbestimmung (Vorbereitung gemeinsam!) eventuell bedenkliche Gallenfarbstoff läßt sich bei längerem Stehen nicht mehr im Extrakt, sondern in der Fällung sehen.

Die Methode hat sich dem Verf. (mit der von Bloor erst seit 1916 empfohlenen Strychninnephelometrie von Anfang an benutzt) seit 1915 stets bewährt und ist in vielfachen Analysen des Lipämiegebietes erfolgreich benutzt worden. Auch sie hängt von den Verhältnissen der Nephelometrie (s. bei Greenwald) ab. Doch ist die Isolierung bereits diffiziler. Die Zeitdauer der Einzelanalyse mit Einschluß des Stehens nach der Füllung dürfte 3 bis 6 Stunden betragen, die direkte Handhabung der Einzelhandgriffe fast 1 Stunde. Die weitgespannte Anwendbarkeit, der kleine Maßstab, der geringe Fehler, schließlich die Gemeinsamkeit der apparativen Geräte (Nephelometrie von Aceton, Chlorion, Purin usw.) sprechen sehr zu ihren Gunsten, sowie die günstigen Vorbedingungen für Reihenarbeit die gleiche Arbeit für Lecithin und Fett.

Verhalten der neuen Isolierungsmethoden zu den Interferenten.

Wir haben nunmehr des näheren ihre Charakterzüge in Hinsicht der P-Verteilung (Objektivität der Lipoid-P-Zahlen) festzustellen. Sie ist — im Gegensatz zur oben beschriebenen Fällungstechnik von Greenwald, neben der sie wertvoll ist und differential zu benutzen bleibt — anwendbar auf alle Elemente und Kombinationen der Blutflüssigkeit, von serösen Flüssigkeiten usw. Sie liefert direkt einen P, der in dem Alkoholäthergemisch löslich ist. Er ist zu umschreiben. Bei der in-

differenten Reaktion findet eine Umformung krystalloiden P's zum „säurelöslichen" kaum statt. Phosphation bleibt (vermutlich) an Ca-Salze geheftet. Der proteingebundene P muß sich im Niederschlage finden. Die P-Interferenzen konzentrieren sich ganz auf den krystalloiden P. Bloor fußte bereits auf den Ergebnissen von Greenwald, die er im Beihalt zu älteren Meinungen über Serumphosphate als wichtig für den Lipoid-P erkannte und entsprechend in kurzer Versuchsänderung zu klären strebte. Bloor hat, das ist ein wichtiger Schritt der extraktiven Phosphatid-Bestimmung, als erster die Rolle nichtlipoidischen, krystalloiden Phosphors für die Methodik erkannt und gewürdigt. Die Versuche sind in zwei prinzipiellen Richtungen ausgeführt. 0,15 mg H_3PO_3 (als K-Salz) geben nur 0,02 mg an 22,0 ccm Ätheralkohol ab. 0,187 mg H_3PO_4 (im Komplex der Lecithinbindung) aus Blutextrakt ließen sich durch wäßrige Ammoniumsulfatlösung mit nur fast 3% Verlust aus Ätheralkohol herausholen. Bloor glaubt durch diese Versuche nachgewiesen zu haben, daß anorganische Phosphate (wenn vorhanden) dem Ätherextrakt fernbleiben. Inzwischen sind übrigens diese letzteren auf verschiedenen Wegen (Magnesiafällung, Greenwald-Verfahren) durch Feigl, Greenwald, Marriott (mit Haeßler und Howland) sichergestellt werden. Doch ist zu bedenken, daß das Greenwald-Verfahren die Phosphate in einen anderen Zustand überführt, als sie primär vorausgesetzt werden dürfen.

Im übrigen sind diese Versuche von Bloor bisher auf die einfachsten Möglichkeiten zugeschnitten und bedürfen dringend der Überprüfung, wie auch besonders der Erweiterung vom Gesichtspunkte der Rest-P-Frage aus. Da diese der Angelpunkt einer gründlichen Kritik der Lipoid-P-Bestimmung sind, müssen sie von neuem aufgerollt werden. Die Methode bezweckt die ungeschmälerten und mit Fremdstoffen nicht belasteten, objektiv zutreffenden Werte für den Phosphatid-P. Ihre Normalzahlen halten sich etwa auf der Höhe der Greenwaldschen, wie wir belegen werden. Für ihre Kritik kommt speziell die Methodik Greenwalds in Frage. Wir müssen in der Angelegenheit der Interferenzen beide gemeinsam behandeln. Die Beendigung des Verfahrens durch Bestimmung der P_2O_5 folgt unten.

Die Einführung der beiden beschriebenen Methoden brachte, wie bereits zum Teile erörtert, gänzlich neue Voraussetzungen und Grundlagen für die Bestimmung und objektive Kenntnis der Phosphatidverhältnisse des Blutes (usw.) mit. Diese (besonders die essentiellen) ruhen fast ausschließlich in den vorbereitenden Maßnahmen, vor allem in der Isolierung. Die unten zu behandelnde Bestimmung des gewonnenen P_2O_5 mußte dagegen — schließlich nur eine Folgeerscheinung — dem Maßstabe der Gesamtanalyse angepaßt werden. Die Abweichungen geben sich kund in der Erzielung wesentlich

höherer (und konstanterer) Werte für die gesuchte Größe. Ausgehend von dieser Tatsache mußte nach den Ursachen gefragt werden. Dabei war den inzwischen gemachten Nebenbeobachtungen Rechnung zu tragen.

Diese bestehen in der Festlegung der Grundzüge der P-Verteilung, die alsbald anschließend durch Feigl umfassende Bearbeitung nach der Richtung des krystalloiden P erfuhren. Trotzdem nun einmal die Proteinbindung eines kleinen Teiles von Gesamt-P (durch Greenwald) und die nichtfällbare Natur des anderen (hauptsächlichen) Nebenanteils gesichert schien, fielen die neuen Zahlen höher aus. Beide Verfahren setzen sich zum Ziele, den krystalloiden P grundsätzlich auszuschließen. Für Greenwalds Fällungsverfahren ist dies mit Sicherheit anzunehmen, für Bloors Extraktion in schematisierter Form zum mindesten (teilweise) wahrscheinlich gemacht, so daß an dieser letzteren Stelle anzuknüpfen sein wird (Rest-P). Man darf also in voller Breite der einschlägigen Gesamtkombinationen annehmen, daß Greenwald den phosphatidartigen und proteingebundenen gemeinsam bestimmt, daß Bloor hauptsächlich nur ersteren erfaßt (eventuell Anteile des krystalloiden in geeigneten Kombinationen bruchstückweise mitreißt). Zur Klarstellung der tatsächlichen Interferenzen wird die Vergleichsanalyse extremer Blutzusammensetzungen erheblich beitragen können (s. u.). Der fernere große Fortschritt beruht in dem Übergange auf einen mikrochemischen Maßstab mit der Möglichkeit häufiger Benutzung. Trotz dieser Präzisierung sind die endgültigen Befunde für den Lipoid-P höher als bei den älteren Verfahren, die zum Teil diesen (derzeit nicht bekannten) Nebenerscheinungen kein Recht widerfahren lassen, die mit Wahrscheinlichkeit primär oder durch sekundäre Umstimmungen Anteile der Interferenten mit in die gesuchte Fraktion einbeziehen.

Beurteilung der höheren Lecithinwerte neuer Methoden im Hinblick auf die Interferenten und mit Rücksicht auf die Verhältnisse der älteren Arbeitsweisen.

Greenwald und Bloor sowie Feigl haben sich also mit der Frage nach den Ursachen und nach der Berechtigung der höheren Zahlen befaßt.

Der erstere sagt, daß die wesentlich niederen Zahlen von Peritz, von Bornstein, von Beumer und Bürger gänzlich eine Folge der nicht quantitativen Isolierung seien; Taylor und Miller räumten für ihre Versuche dasselbe ein. Die Erschöpfung des vorgetrockneten Serumgemisches (mit Sand oder indifferenten Salzen) ist nicht quantitativ, da die Außenschicht trockenen Eiweißes den Rest zu fest umhülle, als daß die Lösungsmittel eindringen könnten. Die erste Ursache sei also eine ungenügende Extraktion. Andererseits bestehe die (sehr breite) Möglichkeit, daß durch Trocknung und Vorbehandlung, oder auch während der Erschöpfung teilweise Zerstörung der Phosphatide vor sich gehe. Beide Bedenken treffen auch für Klein und Dinkin zu. Die von Lesser benutzte (alte) Fällung des Serums mit Alkohol, Extraktion des Niederschlages und Verarbeitung der Filtrate durch Umfällen und Wiederaufnahme kommt der Wirklichkeit am nächsten. Bloor schrieb (1916) in einer zusammenfassenden (literarisch, methodisch, statistisch berichtenden) Sammelarbeit, daß die alten Lecithinbefunde bedenklich seien, zumeist nur einen Teil der Substanz darstellten, und daß seine Zahlen mit denen Greenwalds gemeinsam das alte Niveau weit überschritten. Auch er räumt der Zerstörung eines Teiles der Lipoide im Verlaufe der Vorbehandlung die erste Stelle ein; er weist jedoch besonders darauf hin, daß in Blutproben usw. eine Zerstörung des Phosphatidgemenges auch ohne Eingriffe vor sich gehen könne. Die meisten älteren Werte sind nach Bloor geradezu bestreitbar.

Feigl bestätigte die Angaben mehrfach und gewann die Überzeugung, daß der letztere Einwand von Bloor mehr als bisher bei pathologischen Blutarten zu beachten sei. Er betonte die weitgehenden Unterschiede zwischen Blut nnd Serum (Begründung der Autolyse von Schippers) und weist darauf hin, daß die Vorbehandlung und Probenahme (trübe und lipämische Proben, gerinnungshemmende Zusätze usw.) richtig zu bewirken, die einleitende Verarbeitung tunlichst sofort auszuführen seien. Die Zerstörung durch Trocknung usw. ist von dem führenden Lipoidforscher S. Fraenkel für die Verhältnisse präparativen Arbeitens gebührend erläutert und durch wertvolle neue Methoden umgänglich gemacht worden. Zweifelsfrei haben, ins analytische Gebiet, besonders bei geringen Mengen, übersetzt, auch die bloßen (beschleunigten) Lufttrocknungen von Erlandsen aus obigen Gründen Bedenken an sich. Vor allem fand Feigl, daß die Fehler der verschiedenen älteren Arbeitsweisen analytischer Phosphatidisolierung sich nicht übersehen lassen, daß sie inkonstant und nicht proportional (verschieden nach der chemischen, physikalischen, pathologischen, eventuell bakteriologischen Zusammensetzung des Blutes) ausfallen, daß also die Fehler einzelne Kombinationen unverhältnismäßig betreffen. Schließlich ist es eine ganz und gar nicht von vornherein übersehbare Sache, wie die sekundären Zerfallsprodukte (der Phosphatide, des Proteinkomplexes, krystalloider P-Verbindungen) neben den Vorstufen des säurelöslichen P in den Extraktionsvorgang eingreifen. Die alte Alkohol-Äther-Fällungsmethode hat, vermutlich als einzige, die Fähigkeit, gewisse Anteile

krystalloiden P's chemisch mit sich zu ziehen. Man hat also häufig genug zwei übereinanderlaufende Fehlerquellen bei sich — nichtquantitative Herauslösung der gesuchten Lipoide (Defizit) und Mitaufnahme nichtlipoider P-Verbindungen (Zuschlag) —, die durch die sekundären Zersetzungen der empfindlichen Stoffe in ihren Erscheinungen vervielfältigt werden. Ein mechanisches Mitreißen von nichtlipoidem P (präformiert oder sekundär durch Zerstörung gebildet) kann auch bei Lösungsmitteln der Fall sein, die nicht an sich Phosphate usw. aufzunehmen vermögen. Was die allgemeine Beurteilung der Arbeitsweisen angeht, so ist gegen die Benutzung zu präparativen Zwecken mitunter (aus verschiedenen Voraussetzungen) auch da nichts einzuwenden, wo die Verwendung als Grundlage einer Analyse von vornherein ausgeschlossen ist. Man müsse beide Fragen auch in der Beurteilung auseinanderhalten, die präparativen Methoden seien keineswegs von vornherein als Ausgangspunkte für die Analyse anzusehen.

Im übrigen sind, was das Lecithin angeht, alle Extraktionsmethoden von vornherein prinzipiell ungünstiger gestellt, als dies für sonstige Elemente des Lipämiekomplexes zutrifft. Besonders eingehend ist die Frage nach dem quantitativen Verlauf der Erschöpfung im Gebiete der Cholesterinämie studiert worden. Dort kam man überein (Authenrieth, Weston, Bloor, Gettler und Baker u. a.), daß völlige Aufspaltung des kolloiden Proteins vorhergehen müsse, um die Extraktion vollständig verlaufen zu lassen. Ferner wurde dort diskutiert, ob z. B. eine Chloroformextraktion des alkalischen Serumhydrolysates dasselbe leistet wie nach dem Ansäuern des Gemisches. Jedenfalls ergab sich, daß die Proteine denaturiert, koaguliert, bzw. durch Alkoholbehandlung so verändert sein müssen, daß ihre kolloide Beschaffenheit aufhörte, wobei zugleich etwaige vorausgesetzte Protein-Lipoidbindungen gesprengt wurden; so würde dann die Gewinnung völlig erzielbar sein. Alle irgendwie eingreifenden Manipulationen fallen beim Lecithin ohne weiteres fort, da es sich hier um die Herauslösung der präformierten Stoffe handelt. Dabei kann, wie die vorstehenden Erörterungen zeigen, nach keiner Richtung vorsichtig genug verfahren werden. Es ist darum von Interesse, daß später (Cholesterinanalyse) nachgewiesen wurde, daß die Methodik Bloors ergiebig genug sei, um quantitative Ergebnisse unter völliger Schonung der gesuchten Stoffe zu garantieren.

Den erörterten Gesichtspunkten der schonenden Gewinnung von Extrakten, die in gewissem Grade stabil sind, der Vermeidung sekundärer Umwandlungen in den zu analysierenden Blutproben vor der Verarbeitung und während dieser, der quantitativen Isolierung in der präformierten Verfassung und der praktischen Bewertung des Verhaltens der bis jetzt bekannt gewordenen Interferenten des Lipoid-P aus der P-Verteilung werden die beschriebenen Methoden im Prinzip gerecht. Sie erfüllen die Forderungen, die an eine zuverlässige Abgrenzung

des Phosphatidgemenges auf Grund der Vorkenntnisse gestellt werden müssen, derzeit in hohem Grade. Sie sind zugleich die einzig gangbaren Wege und wachsen in ihrer Bedeutung nicht nur durch die Beziehungen zu verwandten Fragen des Gebietes (Lipämiekomplex, säurelöslicher P, Rest-P), durch rechnerische (Bloor) und analytische Maßnahmen, sondern auch durch ihren mikrochemischen Maßstab, der Promptheit, geringen Bedarf an Ausgangsmaterial, damit häufige Verwendbarkeit bei nachgewiesenermaßen vollauf genügender Sicherheit im Gefolge hat. Die ferneren Aufgaben liegen in der Prüfung ihrer Handhabung und Wirkungsweise auch unter abweichenden Bedingungen der zu prüfenden Stoffe, in der Anbahnung stichhaltiger Parallelen zwischen beiden Reihen, in der Ausdehnung beschreibender Ergebnisse, in der näheren Begründung des Verhaltens der Interferenten und endlich im Vergleiche zu älteren Methoden.

Vergleich mit älteren Isolierungen.

In diesen Richtungen hat Verfasser an geeigneten Anlässen (s. o.) gearbeitet.

Die in Betracht gezogenen Methoden anderen Charakters waren die folgenden:

Alkoholfällungsverfahren mit folgender Alkohol-Äthererschöpfung (im Gebiete der Lecithinämie speziell von Lesser gehandhabt);

Trocknung mit indifferentem anorganischem Material und Erschöpfung (speziell Bornstein u. a.);

Trocknung mit Natriumsulfat usw. (speziell Klein und Dinkin);

Trocknung des Serums (ohne Zusätze) in verbesserter Form und Erschöpfung (Ausführung nach Gettler und Baker).

„Die gewählte Menge Blut bzw. Serum wird aus einer Pipette langsam in einen Block von fettfreier Cellulose, Filtrierpapier und Wattemasse eingetragen. Über P_2O_5 wird in vac. bei rund 40° getrocknet. Für 5,0 ccm Serum genügt ca. 1^h Erschöpfung im Soxhlet."

Die übrigen Arbeitsweisen (einschließlich bestimmter Variationen) sind aus Mitteilungen, zum Teil aus Handbüchern und zum Teil aus anderen Mitteilungen von Feigl ausreichend bekannt, so daß ihre nähere Beschreibung umgangen werden darf.

Neue Methoden. B.

Mikroanalyse der Phosphorsäure.

Anschließend an die Beschreibung der zwecks Isolierung des gesuchten Phosphatidphosphors beschrittenen Maßnahmen, die auf die Ergebnisse bestimmenden Einfluß haben, sind nunmehr die (zum Teil oben genannten) Bestimmungsmethoden für die gewonnene und bereits mineralisierte Phosphorsäure zu erörtern. Auch auf diesem Gebiete sind die jüngsten Fortschritte, die diesem für vorliegende Zwecke gebotenen mikrochemischen Maßstabe angepaßt sind, zum Teil erst einmal mitgeteilt (überwiegend nur probeweise an wenigen Beispielen tatsächlich angewandt). Sie sind weder des näheren charakterisiert, noch in Reihenuntersuchungen benutzt worden. Vergleiche fehlen völlig. Mit wenigen Ausnahmen handelt es sich um prinzipielle Neuigkeiten mit vielen eigenartigen und nur andeutungsweise gelösten Unterfragen. Eine schematische Aufstellung gaben wir oben.

Was nun die Empfindlichkeit angeht, wennschon bei geringerer innerer Begründung, steht die auf Nephelometrie beruhende Bestimmung mit Hilfe des Strychninphosphormolybdates obenan. Ihre grundsätzliche Kritik bringt Kleinmann.

Pouget und Chouchak fanden (1911) dieses inzwischen mehrfach nachgeprüfte und im einzelnen wohl auch, besonders hinsichtlich des maßgebenden Molybdänsäure-Strychninreagenses verbesserte, außerordentlich vielseitig verwendbare und empfindliche Verfahren auf. Ihre einleitenden Untersuchungen ergaben Klarstellung der Hauptpunkte. Als praktische Durchführung wurde folgendes in Vorschlag gebracht[1]).

Das komplexe Strychninsalz der Phosphormolybdänsäure ist in neutraler oder schwachsaurer Lösung sehr unlöslich. Auf seine Bildung wird hingewirkt. Die Molybdatlösung (Mo-Salp.-Säure) wird wie folgt erhalten: 95,0 g Mo_3 mit 30,0 g $NaCO_3$ (trocken) zu 500 bis 600 ccm mit warmem Wasser gelöst, werden abgekühlt und mit 200,0 ccm reiner HNO_3 von 36° Bé (ca. 66 %) in die bekannte Mo-Salpetersäure verwandelt. Auffüllen auf 1 l (Lösung I). 2,0 g neutrales Strychninsulfat (Lösung II). 10,0 ccm Lösung I (Mo) und 1,0 ccm Lösung II (Strychnin) werden gemischt, filtriert (vorrätig) und ergeben das fertige Reagens.

Die Reaktion ist durchführbar in einer Lösung von 3,7 % HNO_3 mit 2,0 ccm Reagens bei 0,005 mg P_2O_5 in 100 ccm Lösung. Empfind-

[1]) J. Pouget und D. Chouchak, Bull. soc. chim. d. France 5, 104, 1909; 9, 649, 1911.

lichkeit 1: 20 000 000, Bei dieser Menge zeigt sich zunächst (5 bis 10 Min.) eine opalescente, leicht trübe Färbung, die gering und in rd. 25 Min. am stärksten ist (meßbar). Im Colorimeter (die Autoren sprechen das Verfahren als Colorimetrie an, s. u.) erscheint eine mehr oder minder bräunlich-gelbe Trübung. Bei 3,7% HNO_3 ist die Färbung (Trübung) dem Gehalte von P_2O_5 proportional (Meßbereich), wenn P_2O_5 zwischen 0,02 mg und 0,1 mg für 100 ccm Flüssigkeit liegt. Diese Proportionalität bleibt erhalten für Konzentrationen von HNO_3 zwischen 1,5% und 4,2%.

Die Autoren geben an, daß unter den vorliegenden Bedingungen SiO_2. auch sonstige Oxyde, nicht stören, wenn sie gegen P_2O_5 groß bzw. geradezu ungeheuer sind. CaO darf das 20000fache der P_2O_5 betragen, Eisen gegebenenfalls das 1200fache.

0,01 mg bis 0,05 mg P_2O_5 aus Aschenlösung usw. werden in 10,0 ccm HNO_3 (35%) aufgenommen und nach entsprechender Behandlung in ein 50,0 Meßgefäß gefüllt. Zu einem Vol. von rd. 45,0 ccm gibt man 2,0 ccm Reagens, füllt auf, schüttelt und mißt nach 20 Min. Vergleichslösungen: 2,0 ccm bzw. 3,0 ccm Phosphatlösung, die in 1 l 10,0 mg enthält, mit 10,0 ccm der HNO_3 versetzt, aufgefüllt usw. Die Phosphatvergleichslösung vom Gehalt 10,0 mg P_2O_5 in 1 l wird bereitet aus 0,1918 g KH_2PO_4 zu 100 ccm (Stammlösung); 10,0 ccm dieser werden zu 1 l verdünnt.

Die Anwendbarkeit der Reaktion ist nach den Vorbedingungen groß (Wasser, biologisches Material usw., selbst auch Eisen).

Blut und Serum (Aschen) untersuchte erst Greenwald, der (1915) als Erster die Methode in die tierische Biochemie übernahm[1]). Seine Ausführung hat Verf. a. a. O. beschrieben. Die (hinsichtlich der im Filterrückstand steckenden) Filtratmenge (s. o.) korrigierten Fraktionen unterliegen folgenden Verdünnungen: 1 ccm Serum (Extrakt usw., Aschenlösung) auf 50,0 ccm aufgefüllt. Von dieser Menge 20,0 ccm oder 10,0 ccm im Verlaufe der Bestimmung auf 50,0 ccm gebracht. In der Bestimmung figurieren also die Lipoid-P bzw. Säure-P-Mengen von $^1/_{250}$ ccm Serum bis $^1/_{125}$ ccm Serum in 50,0 ccm Volumen, mit der aus 5% Fehler errechneten Erkenntnisschwelle von $^1/_{5000}$ ccm Serum. Die entnommenen 10,0 ccm oder 20,0 ccm (anfangs praktisch beide gemeinsam als Doppelanalyse im verschiedenen Meßbereich) werden in 50,0 ccm Meßgefäßen mit 5,0 ccm verdünnter HNO_3 (35,0 ccm konz. HNO_3 zu 100 ccm verdünnt) versetzt, auf rd. 45,0 ccm gebracht, mit 2,0 ccm Strychnin Reagens gemischt, aufgefüllt, durchgeschüttelt, nach mindestens 20 Min. colorimetrisch bestimmt. Die Vergleichslösung enthält in 5,0 ccm 0,0131 mg P = 0,03 mg P_2O_5. Diese 5,0 ccm werden im 50,0 ccm-Meßgefäß, wie der Versuch, behandelt. Im Dubosq setzt man die Vergleichslösung am besten auf 80,0 mm; auch 40,0 mm ist (jedoch weniger günstig) brauchbar. Bei Greenwald findet sich eine Notiz, die den Schwierigkeiten des Reagenses gerecht wird. Nach

[1]) J. Greenwald, Journ. of Biol. Chem. 21, 29, 1915.

Mischung der Lösungen (I und II, s. o.) filtriere man und benutze sofort! Dieser keineswegs angenehmen Eigenschaft verdanken wir die späteren Versuche zur Verbesserung der Lösung.

Die nächsten Untersucher, die sich mit der Benutzung des Reagens überhaupt beschäftigten, sind meines Wissens die folgenden: Denigès empfahl das Reagens 1911, Feigl (seit 1915) in biologischen Flüssigkeiten, besonders Blut usw.[1]). Kober und Egerer überarbeiteten die Verhältnisse dieses Analysenverfahrens noch einmal gründlich in praktisch erfolgreicher Weise [1915][2]). Medinger (1915) kombinierte ein Reagens für den speziellen Gebrauch in der Wasseranalyse[3]). Bloor ging (1916) zur Benutzung dieser Methode über[4]). Kolthoff gelangte in seinen Studien zur chemischen Trinkwasseruntersuchung, die er durch Übernahme verschiedener neuer Methoden der reinen Chemie bereicherte, auch zur Befürwortung dieser Bestimmung der Phosphorsäure [1917][5]). In der Biochemie ist meines Wissens bisher nur von Feigl (an sehr ausgedehntem Material) mit der Methode gearbeitet worden. Trotz der genannten Vorschläge zur Verbesserung ihrer Handhabung und trotz der beschreibenden Studien ist noch vieles ungeklärt[6]).

Das von Medinger vorgeschlagene haltbare Reagens, das dem Originalpräparat weit überlegen ist, wird gleichfalls in salpetersaurer Lösung wie folgt hergestellt. Klare Lösung von 40,0 g Ammolybdat in 100,0 ccm Wasser wird unter lebhaftem Schütteln mit 80,0 ccm gesättigter wässeriger Lösung von Strychninnitrat versetzt, bis eine leichte Trübung eben bestehen bleibt. Man gießt die Mischung in ein gleiches Volumen HNO_3 (D 1,4) unter Bewegen ein, läßt 24 Stunden stehen, filtriert ab und gewinnt ein haltbares Reagens durch Zusatz einiger Tropfen Strychninnitratlösung. Aufbewahrung in kleinen Flaschen. Empfindlichkeit für Trinkwasser 0,0001 mg P_2O_5 in 1 l.

Kober und Egerer übertrugen die Lösung in salzsaure Reaktion und versuchten, das in ihr enthaltene Molybdat in kontrollierbare Form zu bringen. Eine farblose und haltbare Lösung wird folgendermaßen erzielt. 35,5 g reine (NH_3-freie, 100%) MoO_3 werden mit 50,0 ccm

---

[1]) J. Feigl, Vortrag, l. c. (1916) sowie diese Zeitschr. **81**, 5/6, 380ff., spez. 415 bis 419, 1917: Kritik und Handhabung der Reagentien, Wesen der Methode.

[2]) Ph. A. Kober und G. Egerer, Journ. of Americ. Chem. Soc. **37**, 2373, 1915. Kritik der Nephelometrie (s. später).

[3]) P. Medinger, Chem.-Zeitg. **39**, 781, 1915. H. Serger arbeitete in der Trinkwasseranalyse mit dem Originalreagens. Chem.-Zeitg. **39**, 613, 1916.

[4]) W. R. Bloor, Journ. of Biol. Chem. l. c. 1916.

[5]) J. H. Kolthoff (Trinkwasseruntersuchung, V), Pharmac. Weekblatt **54**, 1005, 1917.

[6]) Mit der systematischen Untersuchung dieser und anderer mikrochemischer P-Bestimmungen ist zur Zeit Herr H. Kleinmann in meinem Laboratorium beschäftigt, über Neues zur Nephelometrie desgl.

einer Lösung von 400,0 g NaOH in 1 l Wasser etwa 1 Stunde gekocht; die Mischung wird auf 84,0 ccm mit Wasser gebracht, mit Talk zu einem leicht gelblichen Filtrat geklärt. Die Lösung wird auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht, der Rückstand mit Alkohol von 96% verrieben, abgesaugt (wiederholte Behandlung mit 20,0 ccm Alkohol). Die weiße Masse wird bei 40° oder in vac. getrocknet. Strychninlösung aus 2,0 g reinem Sulfat in 100,0 ccm. Salzsäure 1:1, bereitet aus solcher von D 1,20. 5,0 ccm der Verdünnung auf 100 ccm sollen so gestellt sein, daß 24 ccm 30,0 ccm $^{n}/_{2}$-NaOH entsprechen. Reagens: 1,5 g des reinen Na-Molybdats werden in 2,5 ccm Wasser und 100,0 ccm der Säure gelöst, hernach mit 1 ccm Strychninlösung versetzt, nach Stehen über Nacht filtriert, wozu Hartfilter vonnöten sind. Das so erzielte Reagens sei farblos und haltbar. Vergleichslösung aus 5,0 mg KH_2PO_4 in 1 l. Bei der Bestimmung benutzt man 30,0 ccm Wasser, 5,0 ccm der HCl 5,0 ccm Reagens auf 50,0 ccm gefüllt. Messung der Trübung nach 3 Minuten. Empfindlichkeit (für P ber.) 1:2 Mill. Kober und Egerer besprechen Handhabung, Ablesung und Berechnung sowie die eigentliche Apparatur. Kolthoff arbeitet nach Medinger und nach Kober.

Beurteilung. Die Benutzung der geschilderten Methode, die fast ausschließlich zur Herrschaft gelangte, hängt entscheidend von Natur, Empfindlichkeit, Haltbarkeit, Konstanz, Einheitlichkeit des Reagens ab. Die Beschaffenheit eines solchen bestimmt die Anwendbarkeit im laufenden Betriebe und bei Reihenuntersuchungen. Die Originalvorschrift ist keineswegs befriedigend[1]). Nach Erfahrungen seit 1915 bestätigen wir die guten Eigenschaften der Präparate von Medinger und von Kober und Egerer. Bloor schlug (s. u.) ursprünglich ein anderes Prinzip der Nephelometrie vor, das komplizierter ist und von ihm später zugunsten der Strychninmethode aufgegeben wurde (1916). Wir haben, abgesehen von der Überprüfung der Methode an und für sich, in der Anwendung sofort (seit 1915) die Isolierung nach Bloor mit Bestimmung nach der Strychninphosphormolybdatfällung vorgenommen. Im übrigen sind auch theoretische Erörterungen über den Charakter des Verfahrens vorgekommen. Pouget und Chouchak sprachen geradeswegs von Colorimetrie, Greenwald spricht von dem Instrument als Colorimeter, ohne das Verfahren ausdrücklich so zu benennen[2]), Bloor trat bei seinen nephelometrischen Studien dafür ein, daß eine Klarstellung über den Begriff nötig sei[3]). Er vermißt bei

[1]) Schon 1916 nahm Verf. nach einjähriger regelmäßiger Benutzung zu diesen Fragen Stellung (diese Zeitschr. 1917), s. a. Kleinmann.

[2]) J. Greenwald (1915), l. c.; W. R. Bloor (1915), l. c. und J. Feigl (1917), l. c. (Phosphate I).

[3]) W. R. Bloor l. c. (1915), Abschnitt „Nephelometer", S. 143, sowie ders.: Einfache Umwandlung eines Dubosq-Colorimeters in ein Nephelometer, Journ. of Biol. Chem. 22, 145, 1915 bzw. Demonstration, Americ. Chem. Soc. (Boston, Dez. 1914). Auf diese instruktiven Aus-

Greenwald präzise Benennung und betont, daß das Verfahren eine echte Nephelometrie sei. Die bräunlich-gelben Nuancen dicker Schichten beobachte man auch bei Suspensoiden anderer Art (Mastix, Seifen, AgCl). Kober und Egerer sprechen nur von einer Turbidimetrie bzw. von Nephelometrie. Noch zu untersuchen sind die Verhältnisse der Teilchenzahl, der Teilchengröße, des Verhaltens von Neutralsalzen und Säure gegen die Art, Entwicklung und Aufhebung der Trübung.

Das Verfahren setzt in seiner Anwendung Übung und spezialistische Technik voraus. Es ist zu Reihenarbeiten brauchbar und gewinnt mit Sicherheit dadurch an Bedeutung, daß andere wichtige Gebiete auf nephelometrisch-mikrochemische Grundlagen gestellt werden. Im laufenden Betriebe (größerer Laboratorien) läßt sich bald eine für diese Spezialarbeit besonders befähigte Person finden. Wir denken hinsichtlich weiterer Nephelometrien an die Acetonkörper (Scott, Wilson, Mariott, Folin), an Chloride, Seifen (Bloor, Lyman), Purine (Kober) usw.

Die von W. R. Bloor (1915) ausgearbeitete Nephelometrie der Phosphorsäure nimmt in dem Vorschlage des Autors folgende Gestalt an. 10,0 bis 25,0 ccm des auf 100,0 ccm gebrachten Alkoholätherextraktes aus 3,0 Blut (u. a.) mit ca. 1,2 mg Lecithin (d. i. 0,15 mg H_3PO_4) (0,3 bis ca. 0,8 ccm Serum) sind nach fertiger Veraschung in 3,0 ccm Wasser vorhanden. Grob neutralisiert mit 20% NaOH, fein eingestellt mit $^n/_2$-H_2SO_4 und $^n/_{10}$-NaOH (gegen Phenolphthalein) zu eben alkalischer Reaktion wird mit 1,0 ccm 10%iger Am_2SO_4 und 1,5 ccm $^n/_{10}$-NaOH und Wasser auf 10,0 ccm gebracht. Die Vergleichslösung wird bereitet aus 0,6942 g KH_2PO_4, gelöst zum Liter (Stamm mit 0,5 g H_3PO_4); zum Gebrauch zehnfach verdünnt, enthält 1,0 ccm 0,05 mg H_3PO_4. 3,0 ccm (mit 0,15 mg H_3PO_4) werden mit Phenolphthalein in 20%iger NaOH alkalisiert, mit konz. H_2SO_4 gesäuert, wie oben neutralisiert und hergerichtet auf das gleiche Volumen von 10,0 ccm. Nun werden zwei Proben resp. 10,0 ccm $AgNO_3$ (1,5%) in 25,0 ccm Meßgeräte eingefüllt; zu diesen läßt man aus Trichtern, die in 15 Sekunden die 10,0 ccm einlaufen lassen, den Versuch und den Vergleich hinzutreten. Man mischt, nimmt Waschwasser aus den Reagensgläsern der Lösungen hinzu und füllt nach Umschwenken auf. Die Lösung ist nunmehr fertig zur Messung. Die Nephelometerröhren werden mit den betreffenden Lösungen gespült, dann wird im Richards-(Kober-) Apparat auf 50,0 mm des Standards verglichen, im Bloor-Instrument auf 30,0 mm.

Das Verfahren benutzt die Fällung des normalen Silberorthophos-

---

führungen muß gebührend hingewiesen werden. Dazu auch Ph. A. Kober, Journ. of Biol. Chem. 13, 1912/1913; sowie ders., Journ. of Americ. Chem. Soc. 35, 1585, 1913. Ferner T. W. Richards, Zeitschr. f. angew. Chem. 8, 269, 1895; T. W. Richards u. R. C. Wells, Journ. of Americ. Chem. Soc. 31, 235, 1904. Bloor sagt, daß das Originalinstrument von Richards unzureichend ausgestattet und daher wenig ergiebig sei; gegenüber dem Koberschen Vorschlage gewinnt die Ausführung nach Bloor sehr. Die entscheidende Bedeutung der Apparatur erörtert Kleinmann auf Grund neuer Versuche im Verein mit der Firma Schmidt & Haensch.

phates und ist daher darauf angewiesen, alle Substanzen, die mit Ag reagieren, peinlich freizuhalten. Das gilt von der Untersuchungsflüssigkeit wie von den Reagenzien. Letztere dürfen keine Spuren von Cl enthalten und sie müssen geprüft und bester Qualität sein. NaOH werde e natrio hergestellt. „Reines NaOH“ (das carbonatarm sein soll!) kann selten genügen. Das $AgNO_3$ sei streng neutral; gewöhnliche Lösungen sind neutralisiert zu filtrieren. Die Chloride des Blutes werden durch sorgsame Veraschung zureichend entfernt. Bloor erörtert die Frage der Fällung, des Einflusses von Begleitstoffen auf Teilchenzahl, Teilchengröße usw. Reaktion, Neutralsalze, relative Volumina und Konzentration spielen eine große Rolle, desgleichen die Fällungsgeschwindigkeit. Ablesungen sollen (wiederholt) sofort bewirkt werden.

Beurteilung. Das Verfahren wurde nachgeprüft und in der gegebenen Form für verwendbar und befriedigend befunden. Es ist in der Handhabung diffiziler und sicher umständlicher als die Strychninnephelometrie, so daß es für sich selbst wie als Kontrollmethode von Interesse und Bedeutung ist. Praktischen Wert kann man ihm nicht in dem Maße zusprechen, wie er der neueren Nephelometrie eignet. Dagegen ist es sorgfältig durchgearbeitet; manche der von Bloor erörterten Einzelfragen betr. das Verhalten der Trübung sollten entsprechend für das andere Verfahren beurteilt werden[1]).

Was die nähere Kritik der Strychninphosphormolybdatnephelometrie angeht, so muß gerechtermaßen hervorgehoben werden, daß die ersten Untersucher einen wichtigen Teil der Aufgabe lösten. Näher eingegangen auf die Schwierigkeiten der eigentlichen Arbeit ist jedoch erst Bloor in polemischen Ausführungen gegen Greenwald. Im übrigen hat derselbe Autor nachher, wie berichtet, die Methode an Stelle der seinigen übernommen. Die kritischen Erörterungen beziehen sich besonders auf die Natur der Trübungen. Bloor vermißt die Durcharbeitung der auf Teilchengröße usw., Schnelligkeit der Fällung bezüglichen Einflüsse. Er belegt an Beispielen der Ablesung, daß entsprechende Sicherheiten und Korrekturen anzubringen sind; auch wird die Interferenz der Elektrolyte belegt[2]). Die Ablesung in dem von Greenwald gewählten Meßbereich sei zuzeiten schwierig. Die Entfernung der Pikrinsäure sei sehr sorgfältig zu vollziehen. Weitere Bedenken betrafen den Modus der Verdünnung (Schichtdicke). Wichtig wurde der Hinweis, daß SiO_2 zu ähnlichen Erscheinungen wie P_2O_5 führen kann, doch bleibt die Intensität der Bildung zurück[3]). Es ist

[1]) W. R. Bloor (Mikrochem. Lecithinbestimmung), Journ. of Biol. Chem. 22, 133 bis 144, 1915. Erörterung der Strychninphosphormolybdatmethode, S. 136ff.

[2]) P. A. Kober, l. c. 1912/13; W. M. Marriott, Journ. of Biol. Chem. **16**, 289, 1913/14; W. R. Bloor, **17**, 383, 1914.

[3]) O. Scheurer und G. M. Failyer (1906) u. a. weisen auf den SiO_2-Gehalt von Reagenzien, speziell von NaOH hin, der sich bei der Mikrochemie der P_2O_5 störend bemerkbar machte. Bloor hebt die Störung durch Reagensgläser (gering, Jena-Glas) und durch Glasperlen hervor.

selbstverständlich, daß die Ausführungen von Bloor entsprechend gewertet und von uns praktisch berücksichtigt worden sind. Kolthoff kam in der Wasseranalyse auf das Verhalten der SiO_2 zurück und legte die Grenze derselben für störende Mitbeteiligung in seinen Versuchen auf über 25,0 mg in 1,0 l Lösung.

Es ist eine durchaus berechtigte und nicht nur aus prinzipiellen Erwägungen, sondern weitgehend von persönlicher Neigung und Eignung bestimmbare Frage, ob man nephelometrischen oder colorimetrischen Analysenverfahren den Vorzug (an sich wie zum Zwecke von Reihenuntersuchungen) einräumen will. Letzteres ist als das ältere und im kleinen Bereiche und engen Kreise seit Jahren gebräuchliche naturgemäß in Zweifelsfällen näherliegend. Das trifft besonders für die pathologische Chemie zu, die seit Jahren darauf angewiesen ist, Verfahren zu benutzen, die die gewöhnlichen chemischen an Feinheit, Beweglichkeit und Materialbedarf weit hinter sich lassen, ohne gegen die schulmäßigen makrochemischen an Genauigkeit einzubüßen. Im allgemeinen ist auch colorimetrisch vermutlich leichter zu arbeiten. Der angeregte Vergleich kann aber nur dort Bedeutung haben, wo die Leistungsfähigkeit und Empfindlichkeit der einschlägigen Reaktionen vergleichsweise dieselben bzw. wenigstens ähnliche sind, oder da, wo die weiterreichende Verfeinerung durch die Nephelometrie (aus essentiellen oder technisch-analytischen Gründen) nicht von ausschlaggebendem Einflusse sind.

Im Gebiete der mikrochemischen Bestimmung der Phosphorsäure rücken an die nächste Stelle colorimetrische Methoden, deren Feinheiten hinter denen der Nephelometrie zurückbleiben, die aber unter gewissen Verhältnissen (die zur Zeit durchaus nicht befriedigend durchgearbeitet und sichergestellt sind, von praktischem Werte sind und die daher in das Gebiet der Lipoid-P-Bestimmung kleinen Maßstabes übernommen wurden).

Die auf der Bildung des komplexen Phosphormolybdates beruhenden Methoden kommen für unsere Zwecke in zweifacher Richtung in Frage. Ihre Bedeutung ruht auf der Tatsache, daß sie quantitative Fällungen zulassen bei Gegenwart von Ca und Fe und in der Molekularvergrößerung. Ihre nähere Erforschung schreitet über die Arbeiten von Sonnenschein, Wagner, Maercker, Finkener, Woy,

Hundeshagen, v. Lorentz, Neumann. In spezielle Richtungen weisen Mitteilungen von Ad. Jolles (1898), von Grete (1898) u. a. In jüngster Zeit entwickelten sich aus den Grundtatsachen der Reaktion zwei wesentliche Erweiterungen, die in dieser Mitteilung gleichfalls behandelte Bleimolybdatanalyse und die Colorimetrie, während Gregersen das Stammverfahren von Neumann näher studierte, und später Taylor und Miller unter gewissen Schwierigkeiten an der Übersetzung in kleinsten Maßstab arbeiteten. Auch die Möglichkeit, das Ammoniak des PMo-Komplexes durch Destillation zu isolieren und dann colorimetrisch zu bestimmen, knüpft an die ersten Voraussetzungen dieses Gebietes an.

Der PMo-Komplex eröffnet also die Möglichkeiten einer Bestimmung dreier Glieder, des Mo-Gehaltes durch Colorimetrie (Reduktion) und durch Bleifällung (Wägung), des Ammoniakgehaltes (Colorimetrie), der Acidität nach Entfernung des NH_3. Hinzu kommt das analytische Verhalten des Gesamtgebildes (Colorimetrie). Die Molekulargröße des Fällungsproduktes ermöglicht die Anwendung geringer Mengen von Analysensubstanz.

Finkener fand die Zusammensetzung $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12 Mo_3$ beständig und gewinnbar bei Erhitzen auf 160 bis 180°. Der Körper enthält theoretisch 3,784% P_2O_5, 1,6635% P. Finkener berechnete den empirischen Faktor 0,03794, Hundeshagen (bestätigt von Treadwell) 0,3753. Woy, der die Molybdänbehandlung als Zwischenfällung durchforschte, empfiehlt als obere Grenze des P-Gehaltes 0,1 g P_2O_5 für 50,0 ccm Flüssigkeit und gibt tabellarisch die Reagensmengen bis hinab zu 10,0 mg P_2O_5 an. Die nach Woy geglühte Fällung ist gebaut wie folgt: 24 Mo_3, P_2O_5; sie enthält 3,949% P_2O_5 oder 1,7254% P.

Eine wesentliche Aufgabe war in der Aufklärung der Zusammensetzung der primären Fällung gegeben. Finkener nannte $(NH_4)_3PO_4$, 12 Mo_3, 2 HMo_3, H_2O. Neumann darf das Verdienst zugeschrieben werden, nachgewiesen zu haben, daß es gelingt, die primäre Fällung von konstanter Zusammensetzung in analytischen Verhältnissen zu erhalten: 2 $(NH_3)_3 PO_4 \cdot 24 Mo_3$, 4 HNO_3[1]). Die Methode, vorwiegend die Veraschung, ist hiermit zu großer Bedeutung gediehen und mehrfach studiert worden. Weitere Bedenken, z. B. der Rechenfaktor (Heubner 1914), traten erst

---

[1]) Die ältere Literatur siehe bei F. P. Treadwell, Kurzes Lehrb. der anal. Chem. II. Quant. Anal. 1913, 867ff., Wien, Leipzig, und bei J. Koenig, Untersuchung d. Nahrungsmittel usw. III. Bd. 1. Hälfte 1910, 490ff., Berlin.

später auf[1]. Taylor und Miller haben ein großes Verdienst an der Umformung (Beschleunigung, Mikrochemie). Die Reagenzien (z. B. Sulfat) sind oft diskutiert worden und ihr Verhalten stieg in der Bedeutung, als man in mikrochemischen Verhältnissen an das primär gefällte Produkt anknüpfen mußte, um es weiter abzuwandeln (Colorimetrie des Molydänblau, Bleimolybdat). Gregersen modifizierte (1907) das Verfahren von Neumann im einzelnen[2]. Er sowie auch Woerner[3] gewannen die Überzeugung, daß in biologischen Objekten die genügend sichere Handhabung der Methode bis schließlich 6,0 mg P_2O_5 (d. h. also bis nahezu 2,0 mg P) hinabreicht.

Einzelne Umstände wurden erst später innerhalb mikrochemischer Beziehungen ersichtlich. Bloor wies (1915) darauf hin, daß im Verlauf der Säuregemischveraschung (vermutlich durch die kondensierende Wirkung der Schwefelsäure) Salpetersäure und Phosphorsäure zu einem Komplexgebilde zusammentreten, das eine direkte Ausfällung der P_2O_5 mit dem Mo-Reagens nicht zulasse[4]. Greenwald fand in seinen ersten Arbeiten (1913), daß es in direkter Anwendung der Säuregemischveraschung (bei geringen Mengen P_2O_5) nicht stets gelinge, die nachfolgende Mo-Fällung zu erzeugen[5]. Sie bleibe oft aus. Daraufhin brachte er einige Modifikationen in Vorschlag. Man darf annehmen, daß Neumann das Prinzipielle dieses Verhaltens komplexer P_2O_5—N_2O_5-Verbindungen bekannt war. Er wünscht (ein wichtiges Glied der Manipulationen), daß die Veraschungsflüssigkeit mit Wasser 5 bis 10 Minuten gekocht werde, um die spätere Fällbarkeit hervorzurufen. Diese Wirkung muß nach den wohl häufig beobachteten ersteren Erscheinungen eine hydrolytische sein. Was übrigens das Ausbleiben gesuchter Fällungen von P_2O_5 angeht, so darf in diesem Zusammenhange an Voraussetzungen gewisser Ähnlichkeit erinnert werden. Raper gab (1914) eine Methode an, die für kleine Mengen genügte (bei 0,14 mg Lecithin-P mit rd. 6% Fehler) und erkannte, daß bei dieser die Beifügung einer bekannten P_2O_5-Menge vonnöten sei, um die völlige Abscheidung des gesuchten Materials zu ermöglichen[6].

Eine außerordentlich wesentliche, bereits jetzt wichtige und im P-Gebiete (Serum usw.) vermutlich noch sehr segensreich werdende Feststellung rührt von W. Heubner (1914) her. Diese Beobachtung leitet über in die später zu erörternde Frage nach der Trennung neutralen bzw. organischen

---

[1]) W. Heubner, Faktor bei Neumann-Bestimmung, diese Zeitschr. **64**, 393, 1914; sowie S. L. Jodidi, Journ. of Amer. Chem. Soc. **37**, 1708, 1915; sowie ders. mit Kellogg (1915).

[2]) L. P. Gregersen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 453, 1907.

[3]) A. Woerner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**, 732, 1908.

[4]) W. R. Bloor, l. c. 1915.

[5]) J. Greenwald, l. c. 1915.

[6]) H. S. Raper, l. c. 1915.

Phosphors von Phosphat schlechthin[1]). Neumann fällt bei 70° bis 80° mit dem Mo-Reagens. Heubner fand, was für die Differentialanalyse komplexer Phosphate von Bedeutung ist (bisher nur für Phytin belegt), daß dieser Vorgang bei 40° quantitativ und zielsicher sowie in genügender äußerer Form verläuft. Übrigens empfiehlt auch Bowser[2]) eine Fällungstemperatur von 55° (dabei 1stündiges Stehen, dann 2stündiges Verweilen in der Kälte; s. u.).

Über die direkte Colorimetrie durch die PMo-Verbindung hat A. Jolles[3]) (1898) berichtet. Seither ist über dieses Verfahren nichts Näheres bekannt geworden. J. fand, daß die gelben Färbungen mit steigender Temperatur an Tiefe zunehmen und daß sie ihr Maximum bei ca. 80° erreichen. Auf diese Temperatur sind die endlichen Messungen zugeschnitten. Jolles hat einen Spezialapparat für die Ausführung angegeben[4]). Über den Umfang, in dem sich dieser in die Praxis (es wurde speziell von Blut, Bier, Wein usw. berichtet) einbürgerte, können wir keine Angaben machen. Für Vollblut stimmen die Verhältnisse so, daß 0,1 ccm genügt. Nachprüfungen sind unseres Wissens in der Literatur nicht hervorgetreten. Es kommen 6 Vergleichslösungen, die in einem zylindrischen Drehapparate angeordnet sind, in Betracht (0,1 mg bis 1,1 mg). Es wird ein Mo-Salpetersäurereagens benutzt. Taylor und Miller gaben die Empfindlichkeit (noch gut und zweifellos erkennbare Gelbfärbung) zu 1 : 200000 an. Nutzbare Extreme (wenn andere Stoffe zugegen sind) liegen nach unserer Erfahrung zwischen 1 : 80000 und 1 : 100000. Bei höheren Mengen in dem Verfahren von Jolles kommt es darauf an, vollständige Bildung und Lösung des Mo-Komplexes zu erzeugen.

Beurteilung. Größere Vorzüge können der Methode an sich (trotz des prompt arbeitenden Apparates) nicht nachgesagt werden. Für die mikrochemischen Aufgaben von Blut und Serum, die wir erörterten, hat sie, durch andere Methoden zur Zeit etwas in den Hintergrund

---

[1]) W. Heubner, diese Zeitschr. l. c. 1914.

[2]) L. T. Bowser, Journ. of Americ. Chem. Soc. **45**, 230, 1911; Chem. C **1911**, 1658.

[3]) Ad. Jolles, P-Bestimmung in Bier und Wein. 70. Naturforscherversammlung, Düsseldorf 1898. Chem.-Zeitg. **1898**, 817. — Ders., P_2O_5 im Wasser, Arch. f. Hygiene **34**, 1898. — Ders., P-Bestimmung im Blute. Prager Med. Wochenschrift **1899**, 317; nach einem Vortrage vom 26. IV. 1899. — Ders., Phosphometer (C. Reichert, Wien) zur P-Bestimmung im Blut. Wiener Med. Wochenschr. **1899**. — Vor einigen Jahren wurde mir (F.) durch Herrn Dr. C. Reichert, Berlin, von dem Opt. Inst. Reichert ein Phosphometer zu Studienzwecken freundlichst zur Verfügung gestellt. Die nähere Benutzung des Apparates und seine Leistungen müssen besonders kritisiert werden.

geraten, an Bedeutung verloren. Wie weit das Prinzip oder gar die Apparatur nach Jolles wieder praktisch belanglich wird, das hängt von Erfahrungen in anderen Gebieten (spez. Harnchemie) ab. Unsere bisherigen reichen zu dem Zwecke kaum aus.

Taylor und Miller begannen 1914 eine Reihe von Untersuchungen über mikrochemische Phosphatbestimmungen. Eine Variation und zwar eine solche „für geringste Mengen" baut sich auf der Reduktion der PMo-Verbindungen auf. Dabei entsteht Mo_2O_3 [kolloides Molybdänblau[1])]. Die blaue Färbung wird zur Mengenbestimmung herangezogen. Die Grundlage dieses Verfahrens wurde von den Autoren spezialistisch studiert; sie betrifft die quantitative und zweifelsfreie Gewinnung des PMo-Niederschlages, dessen Handhabung in mikrochemischen Verhältnissen besondere Vorkenntnisse erfordert. Diese Erörterungen, die durch Eingreifen kritischer Einwände vonseiten Rapers durch Taylor und Miller späterhin bewertet und richtiggestellt wurden, setzen wir an dieser Stelle aus. Sie finden sich weiter unten selbständig abgehandelt (Mikro-P-Bestimmung nach Neumann). Taylor und Miller verzichten ihrerseits auf eine gründliche Durchforschung der niederen Mo-Oxyde; später treten sie für eine reichhaltig durchgeführte Prüfung der Reduktionsmittel ein, die hier von Interesse sein muß[2]). Dieselbe kann für sich in Anspruch nehmen, Unterlagen für umgekehrte Verfahren zu bilden, in denen die Reduktionen die gesuchten Stoffe sind. Auf die P-Wolframsäure-, P-Molybdänsäure-Reagenzien sowie Mischlösungen nach Folin und Denis (Phenol, Harnsäure, Tyrosin) sei an dieser Stelle hingewiesen[3]). Die Autoren bemängeln, daß stöchiometrische Beziehungen und die sichere Kenntnis einer Bildung bestimmter niederer Mo-Oxyde bisher fehlen. Die Durchprobung geeigneter Reduktionsmittel ergab zunächst eine Spezialisierung auf die Hydrazine. Hydrazinsulfat und Hydrazinchlorid sind an sich brauchbar, doch zeigen sich Wirkungen, die nicht genau kontrollierbar sein sollen. Die Autoren lehnen also diese Reaktionsmittel ab. Riegler hat später Hydrazinsalze bevorzugt (s. u.). Taylor und Miller benutzen Phenylhydrazinchlorhydrat, dessen Einführung auf mikroskopisch-chemischem Gebiete Mac Callum vollzogen hatte. Die Behandlung der Versuchslösung ist relativ einfach; schwierig ist dagegen eine den Forderungen entsprechende Aufmachung der Vergleichslösung. Der Gehalt an P beträgt für 1,0 ccm 0,202 mg (als Na_2HPO_4). Es ist mit diesem P-Gehalte die Zusammensetzung eines P-Molybdates nachzubilden. Im Komplex stehen 12 At. Mo auf 1 At. P. Danach fordern 0,2 mg P (in 1,0 ccm Lösung) 11,0 bis 12,0 g Mo_3 oder 13,0 bis

---

[1]) A. E. Taylor und C. W. Miller, P-Bestimmung in biolog. Material. Journ. of Biol. Chem. 18, 215, 1914. Mo-Colorimetrie S. 220 bis 224.

[2]) Desgl., Reduktion von PMo-Komplexen in saurer Lösung. Journ. of Biol. Chem. 17, 531, 1913/14.

[3]) O. Folin und W. Denis, Journ. Biol. Chem. 1912, 1915 Reagenzien für Harnsäure und Phenole (Tyrosin).

14,0 g Am. molybdat. Der nach den übrigen Angaben von Taylor und Miller (s. u.) erzeugte PMo-Niederschlag wird in 5,0 ccm $^{1}/_{10}$ n NaOH gelöst und in ein 25,0 ccm Meßgefäß übergeführt, dann 2,0 ccm reine 5 $^{0}/_{0}$ige Lösung von Phenylhydrazinchlorhydrat, dann 10,0 ccm $^{1}/_{10}$ n H_2SO_4 und Wasser zur Marke zugesetzt. Die Färbung erscheint und ist in $^{1}/_{2}$ Stunde entwickelt. Vergleich im Dubosq. Für sehr geringe Phosphatmengen kann die Vergleichslösung auf $^{1}/_{5}$ verdünnt werden. Der nutzbare Gesamtbereich der Ausführung weist über etwa 0,02 mg bis rund 0,4 mg im äußersten Umfange. Durchmustert man die im übrigen sehr verdienstvolle Mitteilung von Taylor und Miller des näheren, so gewinnt man den Eindruck, als ob den Autoren die Sache doch im ganzen recht wenig geklärt und kaum reif für praktische Anwendung erscheine. Sie führen folgende Einwände vor. Die untereinander befriedigend bis gut stimmenden Befunde zeigen übereinstimmend die Neigung, gegen die eingeführte Menge zu hoch auszufallen. Man beobachtet Ausfälle, die sich von dem für die Reaktion typischen Blau weit in „mißfarbene Nuancen“ hineinverlieren. Sie blassen nicht in kurzer Folge ab. Es kommt vor, daß die gesuchte Substanz in der maßgebenden Färbung so weit abweicht, daß die Bestimmung verworfen werden muß. Die Befunde (Lipoid-P, Phosphat) einmalig als Anwendung zitiert, finden sich mit zugehörigen oben erwähnt.

Beurteilung. Unsere bisherigen Nachprüfugen ergaben folgende, teils wohl bestimmt fixierte, teils für später leitende Gesichtspunkte.

Arbeitet man nach Taylor und Miller, so stößt man zunächst auf Befunde, daß die parallel gut liegenden Werte gegen die Theorie um ein Beträchtliches zu hoch sind. Jedenfalls sind sie mit dieser Eigenschaft, die den sonstigen großen Fehlern beitritt, nicht brauchbar. Die Ursache liegt nicht in der Colorimetrie an sich, sondern in Gewinnung und Reinigung der PMo-Fällung. Taylor und Miller haben, wie wir weiter unten sehen werden, unter dem Anstoß von Raper das „Sulfat“reagens verlassen und die mikrochemische Neumannmethode wesentlich verbessert. Sie enthielt im alten Gange zu viel MoO_3. Dieser prinzipielle Fehler ist also von den Autoren selbst später richtiggestellt und ausgemerzt worden. Wichtig und unangenehm bemerkbar sind die Nuancierungen. Im laufenden Betriebe könnte man es nicht darauf ankommen lassen, die gelegentlich farbfremden Proben zu verwerfen; sie sind nicht einmal selten. Bei näherem Eindringen findet man indes, daß durch möglichste Annäherung von gegebenem und gesuchtem P (mit ihm Mo), die praktisch jedoch kaum durchführbar ist, die Abweichungen sich mildern. Die Blaubildung ist einer Entwicklung unterworfen. Die Entstehung soll

in ca. 30 Minuten colorimetriereif gediehen sein. Das Vergehen ist verschieden schnell (die rötlichen Töne gehören ihm an), die Herausbildung desgleichen. Das wären Eigenschaften, die mehr oder minder jedem colorimetrischen Prinzip eigen sind. Sie sind hier zwar umständlicher zu beurteilen, aber durch Wahl einer kürzeren Frist (ca. 20 Minuten) für die dünne Vergleichslösung, einer längeren für die stärkere (ca. 40 Minuten) teilweise zu beheben. Der Gehalt der Vergleichslösungen ist naturgemäß willkürlich wählbar. Wir haben mit solchen von 0,02 mg P, 0,1 mg P, 0,2 mg P (vorläufig) gearbeitet. Ihre Schwierigkeiten liegen in der Zuweisung des proportionalen Mo_3-Gehaltes (nach dem PMo_3-Komplex). Das zu reduzierende Metalloxyd (Mo_3) ist in unbekannter Menge, das Reduktionsmittel (Phenylhydrazin) im Überschuß vorhanden. Bei der Bestimmung der Ūr nach Folin ist die Sache umgekehrt. Es ist daher das dem P adäquate Mo_3 zuzufügen, wobei die Schwierigkeit des Mo_3-Gehaltes käuflicher Sorten mitspielt. Sie ist rechnerisch zu heben. PMo-Säure ist bisher erfolglos erprobt worden. Die Autoren haben später (s. o.) die Bleimethode zur direkten Einstellung von Mo_3-Lösungen ausgearbeitet[1]). Aus dieser ist hierfür Nutzen zu ziehen. Die MoO_3 bestimmt die Reagenzien. Phenylhydrazinchlorhydrat ist ein sehr gutes Präparat, eventuell nach Fischer zu reinigen, in 5 °/₀ iger wässeriger Lösung (ausgekochtes Wasser) am besten stets frisch bereitet[2]). Die geringe Konstanz dieser Lösungen hat es nahegelegt, immer wieder Hydrazinsalze (Sulfat ist z. B. im alten Makro-Bang haltbar) zu versuchen (s. u.). Doch ist gegenüber den sonstigen Bedenken dieses sehr geringfügig einzuschätzen. Die (rein qualitativ bewertete) Empfindlichkeit der Reaktion liegt bei rd. 1 : 800000 bis 1 : 1000000. Sie hängt in verschiedenen Lösungen sehr von einer über purpur, blaßrötlich, schließlich in graurot und fahlgraublau übergehenden Nuance ab. Quantitativ verwendbar liegt die Empfindlichkeit bei etwa 1 : 500000, vielleicht etwas höher. Da der Fußpunkt

---

[1]) A. E. Taylor und C. W. Miller (Best. von P in biol. Material und Einstellung von Mo-Lösungen), Journ. of Biol. Chem. 22, 255 bis 262, 1915.

[2]) Umfällung des salzsauren Salzes aus starker HCl; Freisetzung und Reinigung durch Destillation. Ev. Aufbewahrung als Chlorhydrat.

von Messungen bei etwa 0,02 mg P für 25,0 ccm fertiger Lösung liegen dürfte, so hat man, ausgehend von einem Werte von rd. 10,0 mg Lipoid-P (Greenwald) und rd. 4,0 mg säurelöslichem P (ders.) folgende Verhältnisse für die Analyse von Serum. Aus 1,0 ccm Serum sind die rd. 0,1 mg Lipoid-P völlig zu isolieren. Man kann Bloors Extrakte, Greenwalds Fällung und Lösung, Gettlers Extrakte, bei Veraschung nach Mikro-Neumann benutzen; auch kann man sich vermutlich an die trockene Verbrennung halten (nach Taylor u. a.) mit Soda usw. Da nun bei Hydrämien usw. der Wert für Lipoid auf rd. 4,0 mg für 100 ccm Serum fallen kann (ev. selten noch weiter), so ließe sich das Verfahren ohne wesentliche Umformung benutzen. Der säurelösliche P weist bereits in die niederen Grade hinein. In diesem Sinne haben wir gearbeitet. Die wirklichen Schwierigkeiten sind nach wie vor hohe, doch ist mit ihrer Behebung zu rechnen, so daß schließlich an Stelle der Nephelometrie die unter Umständen für manche Untersucher dienlichere Colorimetrie treten könnte.

Riegler arbeitete ein ähnliches Verfahren aus. Die Grundzüge sind ähnlich[1]) wie in vorstehender Methode. Es wird heiß mit Hydrazinsulfat reduziert. Grenze der praktischen Anwendung 0,1 mg P_2O_5.

Beurteilung. Für sich wie im Vergleich zum Vorschlage von Taylor und Miller gewertet, ist die Methode an sich gangbar. Wir können die Notwendigkeit der Hitzereduktion nicht als wünschenswert bezeichnen, da Elektrolyte eine Veränderung der dispersen Phase herbeiführen können.

Eine Colorimetrie gänzlich anderer Art ruht auf der folgenden Bildung eines Doppelsalzes („kondensierte" Säure) von Ammonium-Vanadat und Phosphorammoniummolybdat. Die Auffindung der Methode rührt von Misson her[2]). Der Autor (übrigens soll auch dieses Verfahren seinen Vorläufer haben) schreibt dem Komplex eine Formel zu, die bei der Zusammensetzung $PO_4(NH_4)_3 \cdot VO_3(NH_4) \cdot 16\,Mo_3$

---

[1]) E. Riegler, Bull. Sect. scientif. Acad. Roumaine 2, 272, 1915. Chem. Centralbl. 1, 1280, 1915.

[2]) G. Misson, Chem.-Zeitg. 32, 633, 1908. Nachgeprüft und in der Stahlanalyse zureichend befunden durch R. Schroeder, Stahl und Eisen 29, 1158, 1909.

nach leichtem Trocknen 1,25 % P und 2,1 % Va enthalten soll. P : NH_4 wie 1 : 4; P : V wie 1 : 1; P zu Mo wie 1 : 16.

Es entsteht eine orangerote Färbung, die proportional dem P-Gehalte sein soll. Reagenzien HNO_3: D 1,20 (HCl-frei). Vanadat: 2,345. Am VO_3 in 500,0 Wasser gelöst, mit 20 ccm HNO_3 gemischt und zu 1 l aufgefüllt. Ammoniummolybdat: 10 % reinen Salzes. Die Reihenfolge der Reagenzien ist Auflösung in Salpetersäure (ca. 20,0 ccm), dann Zusatz von 10 ccm Vanadinreagens und später von 10 ccm Molybdänlösung. Entwicklung 2 bis 3 Minuten.

Beurteilung. Diese Methode ist eigentlich nur für Stahl (Normalstahle als Urmasse) entworfen. Sie muß also umgeformt und für unsere Fälle zugepaßt werden. Ihre nutzbare Empfindlichkeit rangiert etwa gleich mit der des Molybdänblaues nach Taylor (s. o.). Daher kommen dieselben Voraussetzungen usw. in Frage. Es läßt sich mit denselben Vergleichslösungen arbeiten[1]. Die Farbentwicklung ist gut, hängt jedoch etwas von der Temperatur ab. Wir fanden, daß die Prüfung passend im Wasserbade von 40° erfolgen könne (eingestellte Temperatur). Die Nuance ist gut zu beurteilen, neigt jedoch in dünneren Lösungen dazu, ins Kanariengelbe abzuarten. Im Prinzip (Einzelheiten bedürfen noch einiger Aufklärung) haben wir eine sehr günstige Möglichkeit vor uns. Bei etwa gleicher Empfindlichkeit in quantitativer Anordnung und bei gleicher nutzbarer Breite des zulässigen Meßbereiches mit der Mo-Blaucolorimetrie ergeben sich deutliche Vorzüge. Sie liegen in kürzerer und sicherer Entwicklung, besserer Einheitlichkeit der Nuancierung, größerer Stabilität und vor allem darin, daß die große Schwierigkeit der Mo-Colorimetrie, das entscheidende, dem P-Äquivalente entsprechend reagierende Prinzip (Mo_3) in den Reaktionsverlauf einzufügen, hier grundsätzlich fortfällt. Wennschon zuzugeben ist, daß unter gleichen Voraussetzungen persönliche Eignung in der Wahl von nephelometrischen und colorimetrischen Methoden entscheiden (wobei in der Mehrzahl letztere bevorzugt wurden), so ist weiterhin die Lage selbstverständlich, daß innerhalb praktisch gleichwertiger Colorimetrien (bez. deren Reichweite und Sicherheit) die Nuancen und Farben den in optischem Werte beruhenden Ausschlag geben. Wenn es gelingt, die noch nicht völlig geklärten Schwierigkeiten der Vanadium Molybdänmethode zu heben, so wird sie sich vor die Mo-Blaumethode setzen müssen, wie aus dem Gesagten hervorgehen dürfte. Ihre Vorzüge vor der nicht sehr befriedigenden P-Mo-Colorimetrie liegen in größerer Sicherheit, größerer Empfindlichkeit, größerer Farbtiefe und gewisser einfacher Handhabung (Entwicklung). Möglich ist indes das eine, daß in praxi der Fußpunkt des Anwendungsbereiches etwas steigen wird. Das würde im Prinzip wenig ausmachen.

---

[1]) Bei längerer Handhabung ergab sich eine Schwierigkeit in der Abgrenzung der Eigenfarbe von Reagens gegenüber der von P-haltigen (dünnen) Lösungen, so daß wir den Meßbereich hinaufsetzen müssen.

Die Methoden, die darauf abzielen, im Verfolg älterer Arbeiten und im Sinne der Neumannschen Analyse mit den chemischen Eigenschaften des PMo-Komplexes direkt oder in weiterer Abwandlung, zu arbeiten (s. die oben beschriebene Colorimetrie als Mo-Blau), sind darauf angewiesen, zuerst eine Ammoniumphosphormolybdatfällung bestimmter Zusammensetzung zu erzielen. Die ersten Angaben rühren von Neumann her (s. o.). Taylor und Miller haben in zwei Arbeiten den dankenswerten Versuch gemacht, die Neumannsche Methode auch in kleinen Maßstab zu bringen. Setzt man aus salpetersaurer Lösung einen völligen und molekular richtig gebauten Mo-Komplex voraus, so kommt die analytische Weiterarbeit an eben diesem.

Neutralsalze (Chloride, Sulfate, Schwefelsäure usw.) wirken fällungshemmend und lösend. Diese Fehler, so wiesen Taylor und Miller nach, wachsen sich in mikrochemischen Verhältnissen erheblich aus. Mit der Verkleinerung des Maßstabes mußte auch eine Beschleunigung erzielt werden. Neumann ging ursprünglich hinab bis 15,0 mg P_2O_5, Gregersen auf schließlich 6,0 mg, Taylor und Miller gelangen zu 1,0 mg P_2O_5, d. h. für rd. 0,4 mg ist eventuell die Methode noch brauchbar [1]). Sie nähert sich dabei den Anforderungen mikrochemischer Blutuntersuchung stark. Die Vorschrift bezog sich am Beispiel des Harns (2,0 ccm) zunächst auf Sulfatmolybdänreagens, mit dem gefällt wurde [2]). In Centrifugengläsern wurde durch Alkohol gewaschen (Kunstgriffe), im Sandbade getrocknet nach Zugabe des Alkali ($^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ n), hernach titriert. 1 ccm $^n/_{10}$-NaOH entspricht 0,2534 mg P_2O_5, korrigiert auf 0,25 mg. Parallel übereinstimmend waren die Zahlen nach anfänglicher Angabe um etwa 2$^0/_0$ zu hoch. Über diese diskutierten die Autoren (mitgerissenes Mo usw.).

Das Verfahren wurde auch für den neutralen P (organ. P) des Harns ausgearbeitet, desgl. für Fäcesaschen (s. unten).

Wie spätere Einwände von Raper [3]) und die Neubearbeitung durch Taylor und Miller erwiesen, war die erste Ausführung durchaus ein Fehlschlag [4]). Die Störungen liegen zum Teil im Sulfatreagens. Raper gelangte bei seiner Bleifällung zur Prüfung der Mo-Niederschläge und wies das Mitreißen von Mo nach durch den Charakter der Sulfatlösung.

---

[1]) A. E. Taylor und C. W. Miller, P-Bestimmung in Biol. Materialien, Journ. of Biol. Chem. 18, 215, 1914.

[2]) Anwendung auf Harn. Vorschrift S. 216.

[3]) H. S. Raper, Gravim. kleiner P-Mengen, Biochem. Journ. 8, 649, 1915.

[4]) A. E. Taylor und C. W. Miller, P-Best. in biol. Material, Standard von Mo-Lösungen, Journ. of Biol. Chem. 22, 1915.

Taylor und Miller ersetzten ihr Originalreagens (10 % Am_2WoO_4 in 2,5 % H_2SO_4) durch neutrales Molybdat bei Zugabe von 7 % HNO_3. Die Mitfällung von Mo-Lösung ging zurück. Außerdem fand sich aber, daß mit steigenden Überschüssen von Mo-Lösung mehr Mo mitgerissen wurde.

Hält man die Überschüsse gering, so kann man eventuell mit Mo-Sulfatreagenzien fällen. Den nächsten Fehler fand man in der nachträglichen Niederschlagung von Mo-Reagensspuren durch Alkohol. Es zeigt sich ein weißer Schleier, der eventuell mechanisch entfernt werden muß.

Die Methode von Taylor und Miller in ihrer neuen Gestalt sieht folgendermaßen aus[1]). Material um 2,0 mg P in Gestalt von Aschen (auf nassem oder trockenem Wege erhalten) wird im 50,0 ccm-Zentrifugenglas, in wenig verd. HNO_3 aufgenommen und auf 12,0 bis 15,0 ccm mit Wasser aufgefüllt. Rd. 2,0 g Am.-NO_3 (fest) werden eingetragen; dazu kommen 10 bis 12 Tr. konz. HNO_3. Auf dem Wasserbade erwärmt, wurden der Lösung aus zentral geführter Pipette 2,0 ccm 10 % wäßriges (neutrales) Am.-MoO_4 zugefügt. Man schüttelt kurze Zeit, läßt absetzen, setzt nach 10 Minuten abs. Alkohol (nicht über 5,0 ccm) vorsichtig und langsam an den Seiten entlang zu, bewegt schwenkend den Niederschlag und überschüttet dann allmählich mit 50 %igem Alkohol bis zur Höhe des Glases. Man schleudert, gießt ab, setzt 5,0 ccm Wasser + 5 Tr. konz. HNO_3 zu, reibt die Wandung mit kleinem Stabe (abspritzen) ab, schleudert und wiederholt die zweistufige Alkoholbehandlung. Dabei sinkt die zumeist grobe Fällung zu Boden und ist nach 5- bis 6 maliger Waschung rein. Die frühere Trockenbehandlung ist verlassen (Kondensierung der H_2MoO_4 zu $H_2Mo_2O_7$). Jetzt werden dem von der letzten Alkoholwaschung durch Abgießen befreiten Niederschlag für 2,0 mg P 25 ccm $^n/_{10}$-NaOH beigefügt. Nach Lösen und Umspülen in ein Becherglas wird dieses im Sandbade (Wasserbade) zum Eindunsten der Flüssigkeit auf rd. 5,0 ccm erwärmt. Titration.

In der gleichen Richtung arbeitete Bowser[2]). Lösungen von 0,8 mg P_2O_5 und weniger in 20,0 ccm Flüssigkeit erhalten 1,0 ccm Molybdat und 0,5 g $AmNO_3$. Die Fällung erfolge bei 55°, stehe 1 Stunde bei 55°, dann 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur, und werde dann filtriert usw. Titration mit KOH, das nicht über $^n/_{50}$ stehen soll.

Beurteilung. Der Wert eines mikrochemischen Maßstabes für die Neumann-Methode leuchtet ein; sie wird prompter und angenehmer, besonders in Reihenarbeiten. Sie muß aber sorgfältiger auf

---

[1]) A. E. Taylor und C. W. Miller, 2. Arbeit (1915), l. c., S. 257. Eine unmittelbar praktische Frage ist die, ob für Harn usw. im Interesse der Anwendung tatsächlich (gegen das Uranylverfahren) eine minutiöse, schwierige Methode am Platze sei. Das kann man nach entsprechender Kenntnis der Arbeitsverhältnisse bestreiten.

[2]) L. T. Bowser, Amer. Chem. Journ. **45**, 230, 1911; Chem. Centralbl. **62**, I, 1653, 1911.

ein wirklich quantitatives Produkt hin geformt werden. Dies ist von Taylor und Miller und von Bowser im Prinzip erreicht worden. Damit ist auch der Colorimetrie ein guter Boden bereitet (s. o.). Wichtig ist die Frage, wie weit man, ohne Sicherheit und Handlichkeit zu gefährden, den Fußpunkt senken kann. In weiterer Reduzierung der Maßstäbe, die auf sonstiger Höhe durch Zusatz gemessener Phosphatmengen gehalten (bzw. gebracht) werden können, kann man auf 0,1 mg P herabgehen (eigene Befunde). Die Methoden wurden geprüft und weiter ausgedehnt. Dabei zeigte sich, daß dem Anfänger gewaltige äußere Schwierigkeiten entgegentraten. Bei einiger Übung gelingt das Arbeiten in den Zentrifugengläsern mit den häufig aufkletternden Spuren der Fällung, dem möglichst grob zu erzielenden Stoffe, dem Abgießen usw. genügend. Die Vorarbeit muß bewältigt werden. Übertragen in die Chemie des Blutes würde man mit Aschenlösungen von 5,0 ccm oder allenfalls 10,0 ccm zu arbeiten haben. Das Verfahren ist als Kontrolle sehr willkommen. Die von Taylor und Miller nicht gewünschte Umfällung (Raper) ist zuzeiten geradezu notwendig.

Entscheidende Bedeutung gewinnt neben den erörterten Anlässen, wie bereits gestreift, die zweifelsfreie Isolierung des PMo-Komplexes für die Bleimolybdatmethode, die ihrerseits in unserem Gebiete zwei Aufgaben zu lösen vermag, die direkte Analyse und die Mo-Bestimmung zwecks Festlegung des Titers von Mo-Lösungen im Interesse der Mo-Blaucolorimetrie (s. o.).

Sie wurde erstmalig von Ibbotson und Brearley (1900) in Vorschlag gebracht[1]). Ihre Bedeutung ergibt sich aus den Schwierigkeiten der Mo-Analyse. Das in 2 °/₀ HNO_3 gewaschene PMo-Salz wird in wenig Ammoniak gelöst, heiß nachgewaschen, mit 10,0 bis 12,0 ccm starker HCl erhitzt und mit 10,0 ccm 4 % Pb-Acetat versetzt. Diese Mischung wird in ein heißes Gemisch von 50,0 ccm 20 % NH_4Cl + 50,0 ccm starker Am-Acetatlösung übertragen, abfiltriert, gewaschen, geglüht, als $PbMoO_4$ gewogen. Gewicht mal 0,007 = P.

Raper überarbeitete das Verfahren genauer und gelangte zur Überzeugung, daß es für eine Breite von 1,0 mg bis 0,1 mg P ausreiche[2]). Die saure Asche (Neumann) wird bei 80° quantitativ als PMo-Komplex gefällt, umgefällt und direkt in salzsaurer Lösung zu $PbMoO_4$ gemacht. 1 mg geglühtes $PbMoO_4$

[1]) H. Brearley und Fr. Ibbotson, Chem. News 32, 880, 1908.
[2]) H. S. Raper (l. c.), 1915.

mal 0,0069 = P in Milligramm. 1 mg $PbMoO_4$ mal 0,0159 = P_2O_5 in Milligramm.

Taylor und Miller prüften die Molybdänbestimmungen, speziell die Pb-Fällung [Chatard, Merck[1]), Brearley und Ibbotson bzw. Raper] mit dem Ziel grobkörniger, leicht filtrierbarer Fällung im Sinne von Raper[2]). '100,0 mg MoO_3 in 70,0 ccm bis 100 ccm Wasser warm gelöst, geben eine zuerst leicht trübe, dann mit 10,0 ccm HCl (D 1,19) geklärte Lösung. Auf Zusatz von 10,0 ccm 4% Pb-Acetat erscheint in der Hitze keine, in der Kälte eine mehr oder minder lebhafte weiße $PbCl_2$-Fällung. Es wird zur klaren Lösung gekocht. Diese Lösung wird in die oben genannte Ammoniumchloridacetatmischung, die siedet, eingetragen. Man spült nach, rührt, filtriert, wäscht Pb-frei (Gooch-Tiegel), glüht, wägt. 1 mg Fällung mal 0,3922 = MoO_3[3]).

Beurteilung. Die Methode wurde, verschieden variiert, zum Zwecke der Stellung von Mo-Lösungen zur PMo-Colorimetrie benutzt. Sie bewährte sich gut und kann als unerläßlich für die Aufgabe der Mo-Blaucolorimetrie angesehen werden. Als selbständiges Verfahren hat sie großen Wert. Sie kann bis herab auf 0,05 mg P ausgedehnt werden. Sie leistet als Kontrollanalyse auf anderen (vergleichenden) Wegen recht Gutes, wird aber zugleich von der PMo-Fällung, ihrer Handhabung, Reichweite, äußeren Technik beherrscht.

Zum Schlusse sei eines in der Praxis der Eisenhüttenkunde früher viel benutzten Verfahrens gedacht. Es beruht gleichfalls auf der quantitativen Bildung des PMo-Komplexes, welcher in Substanz durch Zentrifugieren volumetrisch ermittelt wurde.

Es ist ursprünglich von C. Reinhardt entworfen worden, für Mengen unter 1,0 cg P. Handhabung und Lösungen sind spezialistisch. Die Schleudergläser sind 13,0 cm lang, 35 mg lichter Weite mit einem kurzen Halse von 15,0 cm Weite und engem graduiertem Bodenrohre von 2,5 mm Lichtweite und 20 mm Länge[4]).

Beurteilung. Wir haben uns in originärer Gestalt mit dieser

---

[1]) Methoden der Analyse von Eisen und Stahl, deren eine auf Permanganat 1,0 ccm = 0,1 mg P (Fußpunkt senkbar, Verf.) hinausläuft.

[2]) A. E. Taylor und C. W. Miller, 2. Arbeit (1915), S. 258ff.

[3]) A. E. Taylor und C. W. Miller, 2. Arbeit (1915), S. 262.

[4]) C. Reinhardt, zit. nach A. A. Blair (übers. von L. Rürup), Chemische Untersuchung des Eisens usw. Abschnitt Phosphor, S. 65 bis 82, spez. 80.

Ausführung beschäftigt und sind schließlich auf 0,05 mg P hinabgelangt. Die Schwierigkeiten dieses Prinzips sind sehr groß. Näheren Einblick gewähren die von H. J. Hamburger mit Erfolg durchgearbeiteten „mikrovolumetrischen“ Bestimmungsverfahren für K und SO_4[1]). Die Fällungsbedingungen, die Krystallformen, die Reagenzien und Apparaturen steigern ihre Anforderungen beim Übergange auf geringe Mengen. Mit den eingeleiteten Prüfungen des Verfahrens und seiner Übertragung auf geringe Mengen sind wir zur Zeit noch nicht zum endlichen Erfolge gelangt. Das Prinzip muß als aussichtsreich betrachtet werden.

Zur analytischen Kenntnis gestreifter Fragen der PMo-Analyse seien folgende bezeichnenden Ergebnisse von praktischer Bedeutung für die Kenntnis der Methoden wie für die Natur der so viel gebrauchten und abgewandelten Mo-Fällung genannt. Sie sind bei eigentlich makrochemischen Mengen genauer und illustrieren den Fehler der PMo-Komplexfällung, die jene durch Nachwaschen erleidet. Dem Fehler muß in der Mikrochemie Bedeutung beigemessen werden.

Heubner, dem wir eine Reihe vorzüglicher Studien über P-Umsetzungen im Organismus verdanken, fand (1914) bei methodischen Vorarbeiten, daß es sich empfehle, den von Neumann ursprünglich gegebenen Rechnungsfaktor — 0,554 — durch 0,57 zu ersetzen[2]). Jodidi kam (1915) durch systematische Versuche zum selben Endergebnis. Er empfiehlt eine besondere Probe einzuschalten und Abzüge der gefundenen Versuchszahlen nach dieser zu vollziehen[3]). Jodidi und Kellogg gingen zur Abschätzung der Einflüsse des Auswaschens über. Dieses ist der wichtigste Faktor der Ablenkung von objektiven Zahlen und schwankt mit der in Arbeit befindlichen P-Menge[4]). Die P-Verluste betrugen 0,4% bis 0,77%. Die Waschung kann reduziert werden (3 mal mit je 5,0 ccm eiskalten Wassers); Neumann, Originalvorschrift (3- bis 4 mal mit je 150,0 ccm).

Beurteilung. Es ist selbstverständlich, daß diese Hinweise viel zur Präzisierung der Stammethode beitragen. Besonders im mikrochemischen Maßstabe sind sie klar und berücksichtigt worden. Die Tatsachen sind von uns vielfältig belegt.

Bekanntlich haben Sulfat-Mo-Reagenzien in der P-Analyse, allerdings vorwiegend zur vorgängigen Isolierung, vielfache An-

---

[1]) H. J. Hamburger (Quantitative K-Bestimmung), diese Zeitschr. **71**, 415, 1915; Derselbe (S-Bestimmung).

[2]) W. O. Heubner, l. c. (1914).

[3]) S. L. Jodidi (Faktor bei Neumanns Methode), Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, 1708, 1915.

[4]) S. L. Jodidi und E. H. Kellogg (Über den Faktor usw.), Journ. Frankl. Inst. **180**, 349, 1915; Chem. Centralbl. **1916**, I, 78. Originalmethode von A. Neumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 129.

wendung erfahren. Bei Taylor und Miller führten sie zunächst in der ersten Methode eine erhebliche Störung herbei, die durch Raper und in der zweiten Arbeit eine Aufklärung erfuhr. In dieser gaben Taylor und Miller (s. o.) an, daß es unter gewissen Bedingungen doch gelinge, mit Schwefelsäure und Molybdat richtige Fällungen und objektive Werte zu erzielen. Das würde die Voraussetzungen konstanter PMo-Sulfatfällungen bedingen. Sie ist m. W. nur von Falk und Sugiura (Schülern von Kober) gründlicher experimenteller Prüfung unterzogen worden[1]). In Gegenwart von Schwefelsäure sollen MO_3-haltige unkontrollierbare Fällungen gebildet werden, die weiteren Variationen mit den Reagenzien unterliegen. Es soll unter gewissen Bedingungen zu einem Komplex kommen, der aus $4(NH_4)_3PO_4 . 12\,MO_3 + (NH_4)_2SO_4 . SMo_3$ besteht.

Beurteilung. Nachuntersuchungen wurden im Interesse der Gewinnung und Bestimmung von Ammoniak als Mittel der P-Analyse angestellt — es stehen $14\,NH_4$ 1 AtPAt gegenüber, was eine günstige Vorbedingung ist. Die Schwierigkeiten, diese Verbindung zu erhalten, sind nach unserer bisherigen Erfahrung größer, als daß man mit ihr zu regelmäßig guten Ergebnissen käme.

Vergleichende Beurteilung der Mikroanalyse des Orthophosphations in Anwendung auf die Blutanalyse, spez. hinsichtlich der Wiedergabe und Einschätzung des Lipoid-P.

Die vergleichende Beurteilung der aufgeführten mikrochemischen Methoden erfolgt nach verschiedenen Gesichtspunkten. Es handelt sich in der Literatur mit alleiniger Ausnahme der nephelometrischen Strychninphosphormolybdatmethode um erstmalige (zum Teil nur einleitende) Vorschläge neuer Bestimmungsprinzipien. Über ihre Präzisierung und Nachprüfung fehlten jede Angaben. Diese haben wir nach den tatsächlichen Verhältnissen, der praktischen Handhabung für wissenschaftliche Einzelanalysen, für Verwendung im laufenden Betriebe, mit dem Ziele der Ermittlung der Empfindlichkeit im qualitativen Sinne, mit dem Ziele der Feststellung des nutzbaren Meßbereiches im Interesse der Absenkung, nach den Vorkenntnissen über störende Nebeneinflüsse und in Hinsicht

[1]) K. G. Falk und K. Suziura (P-Fällung bei Gegenwart von Sulfat), Journ. Amer. Chem. Soc. 37, 1507, 1915.

auf den Charakter und die Beschaffenheit der Reagenzien vollzogen. Die prinzipiellen und individuellen Verhältnisse von Colorimetrie und Nephelometrie müssen gewürdigt werden. Über die Notwendigkeit der Prüfung, Durcharbeitung und Gangbarmachung der fraglichen Methoden kann nur eine Stimme herrschen. Demgemäß ist in den bisherigen Arbeiten fortzufahren[1]). Es ist, wie die Sachen jetzt stehen, und unter der Voraussetzung, daß die Festlegung methodischer Details für präzise Einzelanalysen nicht genügt, daß die Mechanisierung ihrer Ausführungsformen im Interesse laufender Arbeit bei Reihenuntersuchungen durch technisches Personal die Hauptforderung ist, mit der ausschließlichen Voranstellung eines einzigen Verfahrens nicht getan. Mit der Verminderung des benutzten Ausgangsmateriales steigt, besonders in der Blutanalyse, die (bisher sehr beengte) Anwendbarkeit. Dieser verdanken wir unendlich viel. Sie führt aber zur Massenuntersuchung (durch technisches Personal mit spezialistischen Fähigkeiten) und dringt auf Berücksichtigung der genannten Gründe. Aus diesen ist hernach Einseitigkeit unzulässig, da die Feinheiten den zwangsweise zu wählenden Maßstäben entsprechend gewertet werden müssen. Es wäre unzweckmäßig, wo die Vorbedingungen es nicht ausdrücklich erfordern, in extrem mikrochemische Verhältnisse hinabzusteigen. Diese — deren Prinzipien an sich sicher und prompt gehandhabt werden können, bringen mit sich eine mehr oder minder große Zahl von Bedenken (subtile Messungen, Verdünnungen, apparative Schwierigkeiten usw.). Wo tunlich, ist in vergröberten Umständen zu arbeiten. Hierzu kommen die individuellen Fähigkeiten der Beurteilung von Färbungen usw. Das Drängen nach der Anwendung des subtilsten Reaktionsprinzipes ist nicht allen Rücksichten der (praktischen) Anwendung entsprechend. Die Richtigkeit dieser Annahme läßt sich aus vielen Beispielen des vorliegenden Gebietes dartun.

Wir brauchen also verschiedene Methoden mit abgestufter Empfindlichkeit und differenten Meßbereichen. Wie sich in dieser Hinsicht die beschriebenen Verfahren ordnen, ist in

[1]) Mein Volontärassistent H. Kleinmann ist mit einschlägigen Arbeiten beschäftigt.

der Beurteilung angeführt. Vor allem brauchen wir reaktive Prinzipien, die entweder von vornherein verschiedene Grundlage oder verschiedene Beendigung sowohl was Isolierung der gesuchten Produkte, als auch was Festlegung derselben, schließlich was den Modus der Bestimmung anlangt. Die letzte Forderung wird weitgehend erfüllt, wie die Bestimmungen der Glieder des PMo-Komplexes und die Ermittlung des Gesamtgebildes anzeigen. Den bisher gut bzw. zureichend durchgearbeiteten Verfahren stehen solche zur Seite, die gute Aussichten bieten und die der (mühevollen) Weiterarbeit lohnen. Der zweite Punkt, die Festlegung des durch Isolierung angereicherten Produktes, ist der schwierigste. Wir sind mit wenigen Ausnahmen auf die Gewinnung und Handhabung eines konstant zusammengesetzten PMo-Komplexes angewiesen. Die Aufgaben dieses Gebietes sind nicht nur bisher mit viel Aufwand studiert worden; gerade die zahlreichen Rückschläge haben den Boden vorbereitet. Was von der Festlegung der P_2O_5 als PMo-Komplex abhängt, ist beschrieben worden. Letzten Endes ist auch die Strychninmethode ein Glied dieses Kreises. Um so mehr muß das von Bloor vorgeschlagene Verfahren der Silberphosphatnephelometrie im Werte steigen trotz der Schwierigkeiten, die ihm prinzipiell eigen sind und die seine Massenanwendung stark beengen.

An der Spitze steht die Strychninmethode. Wir glauben nicht, daß sie trotz der bisherigen Arbeiten wirklich allseitig festgelegt ist. Sie genügt schon heute den Anforderungen und wird nur durch die Subtilität erschwert, wie oben im einzelnen belegt wurde. Mit ihr sind die meisten Aufgaben zu lösen. Derzeitiger Stand, Anwendung, Bereiche, Bedenken und Aussichten der übrigen wurden beschrieben.

Es fragt sich nun, was die Methoden bei Durchführung der gedachten Aufgaben, der Bestimmung des Lipoids, leisten. Das hängt von ihrer Verknüpfung mit den vorgängigen Arbeitsmethoden (Isolierungsverfahren der P-Fraktionen, speziell des Lipoid-P) ab. Die meisten lassen — unter den genannten Anforderungen — ohne wesentliche Lasten die Verknüpfung zu. Die Isolierungen selbst sind für die Frage der P-Substanzen entscheidend. Für die verwickelteren Fragen, die noch der Lösung harren, sind die differenten Prinzipien nebeneinander

zu benutzen. Die neuen Methoden haben ihren letzten Urgrund in der schonenden und quantitativen Gewinnung der gedachten Produkte. Dadurch haben sie einesteils eine völlige Richtungsänderung, neue Grundlagen und die Möglichkeit der Revision und Erweiterung älterer Ergebnisse geschaffen. Die sichere und nicht sehr diffizile Arbeitsweise (die eigentliche Schwierigkeit tritt erst in der Bestimmung auf) bringt die Möglichkeit breiter Anwendung mit sich, die ihrerseits der Durchdringung des Gebietes zugute kommt und die Vorarbeit für neugeordnete, theoretische Vorstellungen schaffen muß. Die Mängel der alten Befunde sind genannt worden. Über diese Angelegenheit hinaus aber erhebt sich die Leistungsfähigkeit der jetzigen Isolierungsverfahren. Sie scheiden zwischen den Bindungsformen des P scharf, haben den Weg geebnet, auf dem nicht nur die beschreibenden Kenntnisse über den krystalloiden und proteïnoiden Anteil zu gewinnen waren, sondern auch den analytischen Wechselbeziehungen, den Interferenzen und der Sicherung einer Erfassung und Darstellung des lipoiden Phosphors die Grundlagen bereitet. Die Trennung der heterologen Anteile ist im Prinzip möglich, die Trübung der Phosphatidwerte durch anders konstituierte P-Stoffe auf ein Minimum gesunken.

Die Bedeutung der Zahlen für den lipoiden P als Glied des lipämischen Komplexes geht über die isolierte Gewinnung und Bestimmung mit ihren Sonderaufgaben hinaus[1]). Die rechnerischen Manipulationen haben die Aufgabe, die Verteilung der Fettsäuren aus ihrer analytisch direkt zugänglichen Gesamtfraktion und ihrer Unterbringung auf die Gesamtheit des durch den lipoiden P wiedergegebenen Gemenges (im weiteren Verlaufe auf den Esteranteil des Gesamtcholesterins) zu ermöglichen. Die inneren Schwierigkeiten dieses Vorgehens wurden gewürdigt, der schematisierende Einfluß betont, aber die Notwendigkeit (und die ferneren Aussichten) der Formulierung belegt.

Sie beruht auf der Annahme eines (den meisten Verhältnissen wohl näher angepaßten) Oleyl-Stearyllecithins (Bloor). Dieses ist aus dem ermittelten P durch Multiplikation mit dem (abgerundeten) Faktor 26

---

[1]) Die innere Zwecklosigkeit isolierter „Lecithin“zahlen für die Schilderung lipämischer Störungen (Bornstein im Gegensatz zu Peritz) hat Verf. hervorgehoben (l. c. 1918).

zugänglich. Die innewohnenden Fettsäuren werden mit dem Faktor 0,7 zurückgerechnet und von dem Betrage der Gesamtfettsäuren abgesetzt. Das Verfahren der schematischen Unterbringung läßt je nach den Analysengängen Variationen zu.

Die Bedeutung beschreibender Wiedergabe des „Lecithins" im Gefüge der verschiedenen, (besonders) pathologischen Lipämien kann nicht unterschätzt werden, da die Relationen der gesuchten Größen für Charakter (Norm und Abartung) des gesamten Fettstoffwechsels von Bedeutung sind[1]).

Der krystalloide P (säurelöslicher, orthophosphatischer, restlicher) stellt nicht nur eigene beschreibende Aufgaben, sondern methodisch-analytische, die an die in pathologischen Verhältnissen bedeutungsvolle Restgröße anknüpfen und auf die Abgrenzung gegen den lipoiden P dringen.

Der mitfällbare, kolloide, nicht ätherlösliche P in Proteinbindung ist am wenigsten direkt erfaßbar. Seine Eigenschaften (Größe, Verhalten) sind durch Gegenüberstellung der (in seiner Sache) different arbeitenden Isolierungsverfahren zugänglich und bedürfen der (bisher fehlenden) Beschreibung. Er wird im Fällungsverfahren zu einem Gliede des gesamten fällbaren P und kann eine Beschwerung des lipoiden P (vielleicht u. U. eine Trübung seiner Zahlen) ausmachen.

Die Förderung des Kreises der geschilderten Fragen verlangt eine tunlichst breite Anwendung (unter pathologischen Vorbedingungen) beschreibender Untersuchungen sowie die Begründung klarer und präziserer Unterlagen. Damit wird eindringlich auf ergiebige, in ihrer Leistung und Reichweite gründlich durchgearbeitete Methoden verwiesen. Diese wiederum setzen eine analytische Vorarbeit voraus, die sich der gründlichen Prüfung tunlichst vieler und vielseitiger Voraussetzungen zu bedienen hat. Aus der Gegenüberstellung differenter Verfahren für Isolierung und Bestimmung sowie im Beihalt ihrer Werte gehen an sich schon wertvolle und der Fortsetzung von Studien förderliche Anschlüsse hervor.

Das letzte Ziel der Weiterarbeit über Bestimmung des Lipoid-P muß naturgemäß darin erblickt werden, die benötigten Ausgangsstoffe so herabzustimmen, daß man mit der Tropf-

[1]) W. R. Bloor, l. c. (Zusammenfassung, 1916), S. 587; sowie bei F. Feigl, l. c. (Ödeme I; Leberatrophie III; Lipämie II).

methode (Stichentnahme) nach **Bang** an Stelle der Venenpunktion auskommt. Dann würden Möglichkeiten eröffnet, die bisher außerhalb der Durchführung liegen.

Es darf schon hier bemerkt werden, daß (man vergleiche die Verdünnungsverhältnisse) es auf Grund der Bestimmung als Strychninphosphatmolybdat denkbar ist, mit dem Blutbedarf zwecks Lipoidbestimmung auf 200,0 mg herabzugehen. Dieses Verfahren, das denselben Weg der Verkleinerung zur echten Mikrochemie einschlägt, wie Verf. es für Cholesterin in Arbeit hat, wird demnächst in Vorschlag zu bringen sein.

Ein wichtiger Teil vorliegenden Gebietes liegt in der Trennung anorganischer Phosphorsäure von krystalloidem P in organischen Komplexen.

Für Serum ist diese Aufgabe nach ausgedehnten Versuchen in der Rest-P-Frage, die Verf. bereits mitgeteilt[1]) und später erweitert hat[2]), im Prinzip gelöst, wennschon Erwägungen über die Realität der Unterbegriffe berücksichtigt werden[3]). Zuerst rechnerisch als Differenz formuliert, ist der Rest-P später auch (bisher nur bei günstigen Übungsbeispielen extremer Blutzusammensetzung) in selbständigen Zahlen erhalten[4]). Die Fällung des Orthophosphates vollzieht man mit der Magnesiamethode. Nach dieser haben (später) auch **Greenwald**[5]) rein methodische, **Marriott** (mit **Haeßler** und **Howland**[6]) praktische Analysen ausgeführt. Im Serum liegt unter dem Gesamtbegriff des krystalloiden Phosphors (säurelöslicher P) eine für sich variable, in pathologischen Verhältnissen selbständig auftretende Größe, der sogenannte Rest-P vor.

Im Harn hat man sich bereits früher mit der Aufgabe beschäftigt, den Gesamtphosphor zu entwirren.

Es existiert eine ältere Literatur über dies Gebiet, in der über Methodik, absolute und relative Größe des nicht als Orthophosphat vorliegenden P, über seine angeblichen Schwankungen, über seine Realität erheblich gestritten wurde. Auch hier handelt es sich letzten Endes um die methodischen Aufgaben. Das bewies die nach längerem Stilliegen der Frage unter **Hofmeisters** Leitung von **Kura Kondo** durchge-

---

[1]) **Joh. Feigl** (Über Phosphor, II bis IV), diese Zeitschr. **83**, II, 1917; **83**, II, 81; **83**, III, 218; **84**, IV, 264; **86**, IV, 395, 1918. — Siehe **Feigl** und **Luce** (Akute gelbe Leberatrophie I), diese Zeitschr. **79**, 161, 1917 (Orthheft), sowie II, ebenda; ferner IV diese Zeitschr. **86**, 48, 1918.

[2]) Noch nicht mitgeteilt.

[3]) In Nr. IV und Nr. V.

[4]) l. c. (V. Mitt).

[5]) **J. Greenwald** (II. Mitt., 1916, XXV).

[6]) **W. Mc Kim Marriott**, **F. H. Haeßler**, **J. Howland**, Journ. of Biol. Chem. **1916**, XXIV, 18.

führte systematische Prüfung (1910)[1]). Seither blieb die Sache, wohl wegen der schweren Angreifbarkeit, wiederum völlig aus dem Gesichtskreise der analytischen und der beschreibenden Arbeit. Feigl hat (1918), gestützt auf typische Ergebnisse bei akuter gelber Leberatrophie (die seinerzeit mit Luce gewonnen wurden), die Angelegenheit neu angegriffen[2]). In den nach der Trennung mit der Magnesiafällung hinterbleibenden Rest „organischer P" wurde die neue Methode hineingetragen, die Vorbehandlung und das Verhalten von organischen Phosphorylen berücksichtigt. Weitere Ergebnisse sind bisher nicht mitgeteilt. Sie betreffen die Muskelpathologie (Dystrophie u. a.), Avitaminosen usw. Taylor und Miller haben in ihrer ersten Mitteilung mit den erörterten Mängeln den Mikro-Neumann auch (schematisch) für den „Neutral-P" (organischen P) des Harns in Vorschlag gebracht. Es wurde eine alkalische Barytfällung vorausgeschickt. 20,0 ccm ursprünglicher Urin liefern, zu rd. $^3/_4$ in die fernere Verarbeitung eingeführt, Spuren. Die Mitteilung hat nur für den Hinweis-Wert; alle sonst irgend wünschenswerten Angaben fehlen[3]).

Weitgehender zu Bedeutung gediehen ist die Trennung der anorganischen von organischer Phosphorsäure in Organsubstanz (Preßsäften, Organbreien), und speziell in Muskelsubstanz.

Schon ältere Arbeiten hatten im Muskelsafte auf relativ breiten Nichtphosphat-P hingezeigt. Zu hohem theoretischen Interesse gelangte die Frage des Phosphors im Muskel durch die wichtigen, umfangreichen und methodisch sehr lehrreichen Arbeiten von G. Embden und seiner Schule über das Lactacidogen. Es wurden im Preßsafte primäre Fällungen mit Magnesiamixtur erzielt, denen eine Zwischenfällung mit Mo-Lösung folgte, bevor die endgültige Bestimmung als $Mg_2P_2O_7$ vor sich ging[4]).

Ferner wurde die Trennung mit Hilfe des Pikrinreagenses auch auf die Gewebe übertragen (Chapin und Powick[5]).

Heubner gelangte in seinen ausgedehnten Studien über P-Haushalt zur Prüfung der Bestimmung und Ergiebigkeit von Extraktionsmethoden, die speziell die Lipoide bedenken[6]).

---

[1]) Kura Kondo (Organ. P im Harn), 1910, XXVII 1, 200; ebenda ältere Literatur.

[2]) Joh. Feigl (Organ-P im Harn).

[3]) A. E. Taylor und C. W. Miller (I. Mitt.), Journ. of Biol. Chem. **1914**, XVIII, 219.

[4]) G. Embden (mit Griesbach, Laquer, Schmitz), Zeitschr. f. physiol. Chem. **93**, 94 bis 147 und ebenda **98**, 181, 1917.

[5]) R. M. Chapin und W. C. Powick, Journ. of Biol. Chem. 22, 1915, 97.

[6]) W. Heubner, Umfangreiche Serie von Arbeiten. Arch. f. exp. Path. Pharm. **1913/1915**.

Costantino enteiweißt nach Schenk, entfernt das Hg und fällt in ammoniakalischer Lösung mit $Ba(NO_3)_2$. Bestimmung als PMo-Verbindung. Die Abtrennung des anorganischen P soll vollständig sein[1]).

Naturgemäß überschreiten die eben genannten Untersuchungen, schon äußerlich betrachtet, das Programm der Lipoidbestimmung. Es ist jedoch die P-Verteilung im Serum ein Gebiet mit so manchen problematischen Zügen, denen analytisch im Serum selbst schwerer beizukommen ist, als in den übrigen günstigeren Medien. Man darf die Aufgaben der Isolierung und Bestimmung von lipoidem P im Serum als ein methodisches Problem für sich betrachten. Um einem solchen (losgelöst von dem spröden Boden) die erstrebten Früchte zu entlocken, müssen andere Substrate mit anderer Leistung herangezogen werden. Namentlich im Interesse der Trennung von anorganischem Phosphat und von Phosphorylen (beliebiger Struktur) ist das verheißend; im gleichen Grunde trifft es überdies für P in Protein und Nucleinbindung (ungespaltene Moleküle), der zum fällbaren Anteil gehört, zu. Harn (pathologischer) und Organsubstanz, sowie Organsäfte bilden also ein einfacheres analytisches Experimentalfeld für die vorliegend beschriebenen Aufgaben, auf dem bereits in der Richtung seiner Fragestellungen Heubner u. a. gearbeitet haben.

Tabellen und Befunde.

Gruppe I der vergleichenden Untersuchungen über Lecithinbestimmung setzt die inzwischen, wie erörtert, sichergestellte Strychninphosphormolybdatnephelometrie (zur Bestimmung) und die Veraschung mit Säuregemisch (zur Mineralisierung) voraus. Sie variiert die Extraktionsmethoden (Isolierung), um ihre Reichweite, Ergiebigkeit nebst individuellen Charakteristiken zu belegen. Zu diesem Zwecke werden „normale" Seren, solche pathologisch-physiologischer Art aus verschiedensten Erkrankungen, geprüft. Ihr gehören die zur Gruppe I zusammengezogenen Tabellen I bis IX an. Es wurde angenommen, daß die Konzentration des Serums, Eiweißgehalt, organische Salze, Reststickstoffgebiet, Blutzucker, Acetonkörper, Lipämiekomplex (Fett, Cholesterin), Blutfarbstoffe, Gallenfarbstoff, krystalloider

---

[1]) A. Costantino, Arch. Farmakol. sperim. **19**, 307, 1915; Chem. Centralbl. **1915**, II, 287.

Phosphor von Einfluß auf den Vorgang sein können. Besonders handelt es sich um den Vergleich der Methoden von Greenwald und Bloor, die mit individuellen Eigenheiten den Lipoid-P als gefällten und als extrahierten darbieten. Die pathologischen Seren sind schematisch geordnet.

Die „Nebenbefunde" werden bezeichnet als I: (Cytologie, Körperchenvolumen, Hb.-Gehalt); II: Alkalescenz; III: Spektroskopie (Hämolyse, Hämatinämie); IV: Bilirubin (Diazoreaktion mit besonderem Charakter); V: Dichte (Wassergehalt, Eiweiß, Gesamt-N); VI: Zucker und Acetonkörper; VII: RN-Gebiet ($\overset{+}{U}r$, Amino-N, Kreatinin, Kreatin, Purin, Ammoniak); VIII: Gesamtextrakt (synthetisch formuliert, Bloor); IX: Gesamtfettsäuren, Neutralfett; X: Cholesterin (mit Esterquote); XI: Wa.-R.; XII: P-Verteilung (säurelöslich, organisch, restlich). Wo nötig, wird von der Angabe nach diesen Nummern durch direkte Beschreibung abgewichen. Für die drei älteren Methoden werden 5,0 ccm verarbeitet, und die Bestimmung genau auf den Maßstab der Nephelometrie versetzt.

In der ersten Gruppe (beschreibende Angaben über Lecithinämie) wird nicht der P, sondern das schematisch berechnete Lecithin angegeben.

Die einzelnen Methoden sind wegen der (äußeren) Handlichkeit nach den Untersuchern benannt, die sich speziell im Gebiete der Lecithinämie mit ihnen beschäftigten.

In Tabelle I (normale Sera) halten sich die Ergebnisse nach Bloor und nach Greenwald ziemlich gut die Wage. Die Zahlen fallen in der ferneren Reihenfolge: Stepp-Lesser, Gettler und Baker, Klein nnd Dinkin, Glikin-Peritz mit Defizit-Ausfällen, die schließlich ganz erheblich sein können (Peritz). Die Inkonstanz und die proportionale Abweichung gegen das gemeinsame Ergebnis nach Bloor und Greenwald (und ev. nach Lesser) nimmt in der Reihe zu, wie auch die Differenzen von Parallelzahlen[1]).

Tabelle II (Fälle aus der pathologischen Physiologie) zeigt uns u. a. sehr niedere Lecithinzahlen. In diesen halten Befunde nach Bloor, nach Greenwald, (nach Lesser) sich genügend die Wage, die Trocknungsmethodik alter Art

---

[1]) Diese und andere Fälle sind bisher nicht veröffentlicht.

Tabelle I.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Plasma.

Reihe A. Beobachtungen am Normalen. (Nüchternwerte.)

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Normales Serum (o. B.), ♂	150	170	200	210	235	220	N 1
2	Normales Serum (o. B., Bil. Spur), ♂ .	180	220	240	260	280	270	„ 2
3	Normales Serum (o. B., Spur O_2Hb.), ♂	170	200	230	240	240	250	„ 3
4	Normales Mischserum (soweit bekannt, o. B.)	{135 150	140 140	170 150	200 190	210 220	220} 225}	„ 4
		170	190	200	230	260	245	„ 5
5	Normales Mischserum (o. B., Bil. Spur)	110	130	140	165	180	190	„ 6
6	Normales Mischserum	160	210	230	250	270	260	„ 7
7	Normales Serum (o. B., B.Z. 0,14), ♀	{100 120	130 120	160 140	180 165	200 185	210} 220}	„ 8
8	Normales Serum (Kind von 5 Jahren) (o. B.)	140	145	150	165	180	180	„ 9
9	Normales Serum (Mann, 69 Jahre) (o. B., Ūr 5,0 mg)	140	150	160	180	220	210	„ 10
10	Normales Serum (Fette und Lipoide niedrig normal) (o. B.), ♀	75	90	100	130	140	150	„ 11
11	Normales Serum (Fette und Lipoide hoch normal) (o. B.), ♂	220	230	265	270	300	310	„ 12
12	Normales Mischserum (hoch normal, o. B., Bil. Spur) (Hb. ?)	{170 150	210 200	240 260	265 270	290 300	300} 320}	„ 13

war bedenklich. Auch hier sind die Abartungen der Zahlen nach Glikin (besonders nach Klein, nach Gettler) nicht proportional[1]).

Tabelle III zeigt an Fällen von Diabetes, darunter solchen mit schweren Lipämien, das Verhalten der Extraktionsmethoden gegenüber der Aufgabe, neben viel Fett und Cholesterin den lipoiden P (ohne sonstige schwerwiegende Belastungen) zu isolieren. Die Ergebnisse nach Bloor und Greenwald stimmen recht gut. Merkwürdigerweise vermindern sich mit steigendem Lecithin trotz des Fettes die Abweichungen der alten, an sich ungünstigen Methoden.

---

[1]) Diese und andere Fälle sind bisher nicht veröffentlicht.

Tabelle II.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Plasma.

Reihe B. Beobachtungen aus der pathologischen Physiologie. (Nüchternwerte.)

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Stärkere Blutung (o. B., VI, VII, VIII zum Teil leicht erhöht), ♂ . .	230	—	260	—	310	290	Pp 1
2	Starke Anstrengung (Marsch) (V leichte Hydrämie, VI gesenkt, VII zum Teil erhöht, IX u. X gesenkt, XII Sre.-P leicht erhöht), dgl. Abweichung gegen den chemischen Blutstatus vor dem Versuche	40	—	75	65	85	100	„ 2
3	Mäßige Anstrengung (Marsch) (o. B., B.Z. gesenkt, Bil. Spur), gl. 2, ♂ . .	72	—	100	—	130	140	„ 3
4	Reduzierter Zustand (o. B., VI u. VII niedrigst normal, VIII, IX, X gesenkt), ♀	40	—	70	—	100	120	„ 4
5	Sehr reduzierter Zustand (wie 5, dazu II u. V gesenkt, fast o. B.), ♀	30	40	—	50	60	65	„ 5
6	Sehr reduzierter Zustand (Befunde dsegl., Acetonkörp. +), ♂ . .	30	—	50	—	70	80	„ 6
7	Hohes Alter (79 Jahre) (fast ganz o. B., VII zum Teil erhöht), ♂ . .	ca. 100	—	—	130	150	165	„ 7
8	Adipositas (mäßig) (fast o. B., VIII, IX, X leichte Befunde), ♀	250	—	290	280	340	320	„ 8
9	Gravidität, 4 Monate (noch fast o. B.)	160	—	180	—	220	200	„ 9
10	Gravidität, 5 „ (fast o. B.) . .	150	—	—	180	250	260	„ 10
11	Gravidität, 2 Tage ante partum (X erhöht [Ester], leichte Befunde) . .	270	270	—	300	350	375	„ 11
12	Puerperium, 3 Tage (geringgradige Befunde)	—	—	—	150	200	310	„ 12

Die Xanthomlipämien (an sich mäßigen Grades) zeigen dasselbe[1]). (Tabelle X.)

Auffallend sind die Befunde bei Arthritis urica[1]); das durch Fällung gefundene Lecithin (Greenwald) überragt das extrahierte (Bloor), s. u. Tabelle XI. Wichtiger Beitrag zur vorliegenden Frage.

---

[1]) Diese und weitere Fälle sind bisher nicht veröffentlicht.

Tabelle III.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 1. Diabetes mellitus; 2. Xanthom; 3. Gicht. (Nüchternwerte.)

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäure-fällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1								
1	Schwerer Diabetes (starke Acidose, Lipämie, reduzierter Zustand) . . .	700 600	700 720	800	850	900	920 880	DLp
2	Schwerer Diabetes (starke Lipämie)	600 580	750 740	800	840	850	880 870	DLq
3	Schwerer Diabetes (derselbe Fall, abklingende Lipämie)	340	320	350	390	400	390	DLr
4	Leichter Diabetes (geringgradige Lipämie)	240	220	260	270	280	280	DL 20
5	Leichter Diabetes ohne jede lipämische Umstimmung	170	170	160	230	200	220	DL 24
2								
1	Xanthomatose ohne glykosurische Erscheinungen (VIII bis X hohe Befunde, Chol. 720 mg (71 % Ester), 1009 mg Neutralfett	240 310	300	320	350	380	420 440	X 1 Li
2	Xanthomatose (Kind, Leber +, Hb. und Erythroc. gesenkt (VIII bis X hohe Befunde)	—	310	340	—	380	400	X 1 B
3								
1	Arthritis urica (Befunde in B.Z., R.-N, [Ūr 0,9 mg] Befunde)	190	210	240	260	290	260	An 1
2	Arthritis urica (typische Befunde, Ūr 8,0 mg usw.)	200	—	230	250	310	260	An 2

Tabelle IV zeigt cholämische Lipämien[1]), die durch die Gallenstoffe anderen Zuständen unterworfen sind gegenüber hoher Fett-Lipoiderscheinung. Bloors und Greenwalds Zahlen stimmen befriedigend überein. Die Extraktion ohne eigentliche Denaturierung des Proteins sowie das alte Verfahren der Trocknung werden inkonstanter entsprechend den nicht nur durch Fett und Lipoid komplizierten Verhältnissen.

---

[1]) J. Feigl, Über Lipämien III (Cholämie, Ikterus), 1918.

Tabelle IV.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 4. Leber, Galle.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Gallengangs-Ca. (Kachexie, Ascites, trübes Serum, Bil. +++, sonst o. B.), Gesamtextrakt 840 mg, Neutralfett 543 mg, Cholest. 1100 mg (20 % Ester)	160	—	180	190	230	220	I, 4, E
2	Ca. pulm., sehr verbreitete Metastasen (38,6°, Bil. +, VI u. VII leicht erhöht, Polynucleose, sonst o. B.) . .	170	180	—	230	280	260	I, 1, Z
3	Gallensteinkoliken (23000 Leuk., Bil. ++, IX u. X erhöht, sonst o. B.)	220	—	240	—	320	280	II, 1, Schl
4	Ak. Cholecyst., Cholelithias. (10000 Leuk., IV, V, X Befunde, sonst o. B.)	—	160	—	200	230	200	II, 10, Goe
5	Ict. cat. (sehr stark, mäßige Befunde, Bil. +++, VIII, IX, X stärkste Bef.)	140	—	170	180	230	220	III, 6, Ren
6	Ict. cat. (Lymphocytose, Bil. ++, leichte Befunde, X mäßig)	—	260	—	270	310	320	III, 4, Mat
7	Cirrhose (starker Ikt., VI und VII Befunde, IV desgl., VIII, IX, X stark)	280	330	330	360	400	420	IV, 2, Wu
8	Cirrhose (Alkohol; Erythroc. und Hb. gesenkt, VIII, IX, X, IV Befunde)	—	300	330	—	430	400	IV, 4, Gs
9	Hypertroph. Cirrhose (I bis XII Befunde)	200	—	260	260	350	300	IV, 7, Uxb
10	Akute gelbe Leberatrophie (I bis V leichte bis mäßige Befunde, VI Senkung, VII extrem, desgl. VIII bis XIII [s. Näheres dort])	150	—	200	—	260	270	V, 8, Uxb
		15	20	20	25	30	40	V, 8, Uxd
11	Akute gelbe Leberatrophie (I bis V Befunde, Bil. +++, B.Z. 68,0 mg, R.-N 256,0 mg mit 68 % Amino-N, darin 30,0 mg Ur, 10,0 mg Kreatinin und 30,0 mg Kreatin, VIII 1700,0 mg, IX 600 mg, X 440,0 mg Cholesterin)	50	—	95	100	72	95	L, III, 1

Tabelle V enthält Beobachtungen von Herzfällen, für deren serologisches Verhalten im Gebiete des Lipoid-P frühere Betrachtungen zu den sonstigen Gruppen heranzuziehen sein[1]) dürften. Tabelle V enthält ferner Befunde von nephritischen Seren[1]). Die phosphatämische (Orthophosphat mit niederem

[1]) Diese und weitere Fälle sind bisher nicht gesondert mitgeteilt.

Tabelle V.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 5. Herz; 6. Niere; 7. Arteriosklerose.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
5:								
1	Herzgeräusche (Ascites, Cirrhose usw., mäßige bis starke Befunde, besonders IV, VIII bis X)	300	300	340	360	420	440	ChV, 1, Ho
2	Herzleiden (Mitralinsuffizienz dekompensiert, mäßige Befunde, Hydräm., Bil. Spur)	120	150	170	180	225	210	Ch V, 4 Gd
3	Myokarditis (Endokarditis) (Herzschwäche, Blut steril, Bil. gering, leichte Hydrämie)	80 100 70 }	95	120	160	185	190	ChV, 6 Goe
4	Mäßige Herzschwäche (geringe Befunde, keine Ödeme usw.)	160	200	180	200	270	260	n. n. a.
6:								
1	Sogen. chron. Nephritis (fast durchgehend Befunde, VII 200,0 mg bzw. 80,0 mg bzw. 120,0 mg bzw. 8,0 mg, (R.-N, $\overset{+}{\text{U}}$r-N, Amino-N, $\overline{\text{U}}$r), VIII bis X erhöht, XII 21,0 mg säurelöslicher P; 3,0 m Rest-P)	470 230	240 200	320 300	360 370	390 380	340 350	N × 1
2	Sogen. chron. Nephritis (fast durchgehend Befunde, besonders VII bis X, XII 18,0 bzw. 6,0 mg)	260 340	340 320	360 380	} 380	{ 495 480	460 440	N × 2
3	Nephrose (bisher von Fahr beschrieben)	180	—	230	—	320	270	Ny 1
4	Hämorrhag. Nephritis (übliche, schwere Befunde)	—	180	—	—	260	245	Nz 1
5	Akute Glomerulonephritis (schwere Befunde)	20 110	120 145	140 170	150 160 }	190	175	No 1
6	Akute Glomerulonephritis (I, II, V [?], VII erhebliche Befunde, Urämie, VII 320 mg R.-N, 260 mg $\overline{\text{U}}$r-N, 12 mg $\overline{\text{U}}$r, XII 22 mg Ser.-P, darin 1,5 mg Rest-P)	105 150	170 210	200 240	200 230	245 240	280 270	No 2
7	Maligne Sklerose (mäßige bis leichte Befunde sehr verbreitet, R.-N-Gebiet erhöht, VIII bis X desgl.)	210 280	270 320 }	280	300	{ 360 340	325 335	Np 1
7:								
1	Altersschwäche (Arteriosklerose) (dumpfe Herztöne, Leber ?, Milz +, B.Z. 0,17, R.-N noch o. B., geringe Befunde)	145	—	170	—	{ 200 180 }	210	Ch V. 3, Sk

Tabelle VI.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 8. Sera (verschiedener Art) mit Wa. +; 9. Sonstige Infektionskrankheiten.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Gilkin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
8								
1	Herzleiden (Ödem, Lungeninfekt., Hb. 65 %, Erythroc. vermindert, R.-N 50,0 mg mit betr. Struktur, B.Z. 0,16, Leberlues, leichte Hydrämie, Bil. +, X leicht erhöht)	270	300	330	—	400 420	380	ChV, 2Wd
2	Angina mit lymph. Reaktion, Exanthem, Drüsenschwellung (Hb. 76 %, 10600 Leuk. [67 % Lymphoc.], Bil. ++, VIII bis X o. B.)	170	—	180	200	230 225	180 175	Ch V, 5 Fr
3	Lebercirrhose (Ödeme, Ascites, Herzschwäche, Aortitis luica, Gichtniere usw., I bis X Befunde, XII 12,0 mg säurelöslicher P mit 4,0 mg Rest-P, Chol. 620,0 mg, Lec. 35 % vom Gesamtextrakt	570 440	—	640	680	770 750	700	ChIV, 1Ud
4	Ähnlicher Fall (mit stärkeren Befunden, I bis X Lec. 65 % vom Gesamtextrakt)	620	—	750 800	720	830 800	750	Aop
5	Ikterus (Lues, Salvarsan; R.-N, B.Z., VIII bis X stark erhöht, Bil. ++, säurelösl. P 14,0 mg, Rest-P 4,0 mg)	370 300	400	490	470	490 510	480	Ch III, 3 Kae
6	Ikterus (Lues, Hg, Salvarsan; Bil. maximal, Befunde in R.-N, B.-Z., VIII bis X erheblich, Rest-P 5,0 mg)	240 330	—	300	300	340 310	340	Ch III, 11 Koa
7	Ikterus (Lues, Hg, Salvarsan; Bil. maximal, R.-N an Leberatrophie erinnernd, B.Z. 0,07, Ödeme, Hydrämie, VIII bis X starke Befunde, Leukocytose, Rest-P 4,0 mg)	200 300	220	250	290	340 320	310	Ch III, 12 Kie
8	Frische Lues (Befunde entsprechend, sonst o. B., Rest-P und Ser.-P höher)	300 210	340	370	370	420	400	Lfa
9	Mischserum, Wa. ++ (soweit feststellbar) I, II, III, V o. B., Bil. Spuren, R.-N, B.Z. leichte Befunde, X mäßig. Befunde, XII säurelöslicher P erhöht, Rest-P o. B. [für 9–11]	500 440	570 610	610 660	600 690	700 720	680 660	Lma
10	Mischserum, Wa. ++	320	400	480	470	500	490	Lmb
11	Mischserum, Wa. ++	290 200	240 260	300 270 240	300 260	300 330	270 310	Lmc
12	Tabes (ohne nähere Angaben; R.-N, B.Z., VIII bis X beträchtliche Befunde, X geringere Befunde)	380 520	470 530	520 580	570 550	620 580	600	G I, 47

Tabelle VI (Fortsetzung).

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
13	Tabes (ohne nähere Angaben; R.-N, B.Z., VIII bis X beträchtliche Befunde, XII geringere Befunde) . . .	350	420	390	440	520	480	T I, 38
14	Tabes („Lecithinämie"; 66% Leuk. im Gesamtextrakt)	{510 {610	620	700	770	800	810	T n a
9:								
1	Pneumonie I (40°; typische Befunde, starke Leukocytose)	—	180	200	200	270	240	P 1
2	Pneumonie II (41°; typische Befunde, R.-N, B.Z., VIII bis XII Befunde) .	{65 {90	100	{160 {140	170 200	180 170	150 165	P 2
3	Malaria tropica (schwer; im Anfall, typische Befunde, Hb. + ... } R.-N, Lipämie usw. s. a. O. XII Befunde	—	—	170	200	220	210	M 1
4	Malaria (leicht; kurz nach Anfall Hb. +)	190	—	270	250	280	280	M 2
5	Typhus (41°; typische Befunde)	150	140	—	—	170	185	T 1
6	Influenza (schwerer Fall mit typischen Befunden)	130	—	180	170	210	200	F 1
7	Recurrens (Ödeme, nähere Angaben fehlen)	{60 {35	70 90	75 55	100 75	80 85	75 75	R 1
8	Schwere Tuberkulose (extrem reduziert, Hämoptoe)	{170 {230	210	230	250	270	250	Tbc 1
9	Schwere Tuberkulose (extrem reduziert, Hämoptoe)	—	75	100	110	110	125	Tbc 2
10	Schwere Tuberkulose (mäßiger Zustand, Hämoptoe)	150	165	180	230	220	210	Tbc 3
11	Leichte Tuberkulose (mit geringen Nebenbefunden)	—	—	190	—	230	220	Tbc 4

R.-P) akute Glomerulonephritis beeinflußt die Arbeitsweise nach Bloor im Sinne einer Überhöhung der wahren Lecithinwerte durch krystalloiden P wenig oder gar nicht, wie auch weitere Versuche zeigen. Anders die urikämische chronische Nephritis[1]), bei der es zur fälschlichen Steigerung des gefällten Lipoid-P nach diesen und ähnlichen Fällen kommen kann (Tabelle XI). Nephrose, hämorrhagische Nephritis und Arteriosklerose können nach den sonstigen Meinungen beurteilt werden[1]). Rein methodisch sind die Sera sehr kompliziert (s. o.).

In Tabelle VI sind die sämtlichen (teils erheblich durch andere Einflüsse komplizierten) Fälle zusammengezogen, denen

[1]) Diese und weitere Fälle sind bisher nicht gesondert mitgeteilt.

Tabelle VII.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 10. Bluterkrankungen.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Leukämie (lymphatisch; Nebenangaben s. später)	190	200	220	260	320	270	BL 1
2	Leukämie (myeloische; leichte Lipämie)	200 260	180	170	230 240	360 330	280	BL 3
3	Leukämie (entschieden Lipämie) . .	320	300	250	—	490	420	BL 4
4	Leukämie	150	200	170	—	290	260	BL 8
10	Pseudoleukämie	200	220	—	—	320	290	BL 9
11	Perniz. Anämie (Hb. ++, Bil. ++, Diazo spät, R.-N und B.Z. o. B., VIII leicht erhöht, desgl. Neutralfett, Cholest. gesenkt [85 % Ester]) .	250	—	300	—	355	330	BP 1
12	Perniz. Anämie (Hb. +, Bil. ++, Diazo spät, Lipämiekomplex, VIII bis X ähnlich wie II)	—	250	—	275	320	300	BP 1
13	Perniz. Anämie (Hb. +, Bil. +, Diazo spät, mäßige Erhöhung von VIII, Neutralfett, Cholest. o. B.) . .	—	375	400	—	450	470	BP 3
14	Hämolyt. Ikterus (Hb. Spur, Bil. +, Diazo spät, Lipämiekomplex o. B.) .	200	250	250	270	290	280 285	Bhi 1

positive Wa.-R. gemeinsam ist. Unter ihnen befinden sich verbreitet die sog. Lecithinämien, deren Kennzeichen ihre relativ hohe Beteiligung am Gesamtkomplex von Fetten und Lipoiden ist. Im übrigen treffen sich hier Komplikationen hydrämischer, azotämischer, phosphatämischer, lipämischer Art. Die Abweichungen von Parallelbestimmungen bei der alten Trocknung wie bei den einfachen Extraktionen ohne Denaturierung der Serumpartien sowie den relativen Abständen der Resultate werden beträchtlicher. Bloors, Greenwalds, (Lessers) Methoden arbeiten gut, ausreichend und parallel zutreffend. Bei den „Lecithinämien" der Geisteskrankheiten machen sich für einige ältere Verfahren Bedenken geltend, die mit der Natur und Gliederung der Gesamtphosphatide in Zusammenhang

stehen können, insofern, als die Resistenz gegen analytische Eingriffe und Extrahierbarkeit bei Gegenwart anderer Substanzen besonderen Einflüssen unterliegen können[1]).

Die Tabelle enthält ferner Beobachtungen bei Infektionskrankheiten[2]), die die gegebenen Verhältnisse in ihrer Art erläutern. Experimentalversuche an primär-luischen Seris sind beigefügt[2]).

Von besonderer Bedeutung werden die einzelnen phosphatämischen (Rest-P) Sera und ihr Verhalten bei Aufarbeitung nach Bloor und nach Stepp, die sodann gegen das gefällte (Greenwald) Lipoid aufrückende Werte geben können (siehe Tabelle X)[3]).

Tabelle VII enthält das ausgewählte Material über Blutkrankheiten, das im lipämischen Komplex ein besonderes Interesse in Anspruch nehmen darf[2]). Bei perniziöser Anämie mit Zerfall der Erythrocyten nach hämolytischen Vorgängen ist gelegentlich Hypocholesterinämie der Fall. Es kommt Hämatinämie und Bilirubinämie (mit verzögerter Diazoprobe) vor. Die Seren zeigen eigenartige Beschaffenheit, die auch für die Isolierung besondere Verhältnisse schafft. Bloor und Greenwald arbeiten befriedigend.

Wesentlich anders (nach ihrem Verhalten und nach den Befunden) stellen sich die leukämischen Seren[2]). Sie sind aus dem Kreise der bisherigen Beobachtungen diejenigen, die zweierlei lehren. Der fällbare Lipoid-P übertrifft stets und nicht unbeträchtlich den nach Bloor extrahierten (um rd. 2 %) (Tabelle XII). Es müssen andere, nicht krystalloide P-Körper vorhanden sein. Auffallend hoch sind die Isolierungsmethoden (Glikin, alt), die nicht schonend arbeiten. Beide Erscheinungen fanden sich in dieser Schärfe nur bei Leukämien, weniger ausgeprägt bei Uricämien (s. u.).

Tabelle VIII enthält Beobachtungen an Vergiftungen[2]) Sie dürften, was die Relation der Werte verschiedener Verfahren angeht, nach obigen Betrachtungen erörtert werden. Sie spielen zum Teil (wie auch die Bluterkrankungen) in das hier

---

[1]) Aus Lipämie II, l. c.

[2]) Diese und weitere Fälle sind bisher nicht gesondert mitgeteilt.

[3]) Aus Phosphate VI, l. c.

Tabelle VIII.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 4. Vergiftungen.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) in Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinessigsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Pikrinsäure (leicht; Hb. und Bil. schwach, Lipämie o. B. [Wa. +]) . .	250	—	250	280	320	300	T 1
2	Nitrobenzol (akut, schwer, dann geheilt; Blut mit Hb. überschwemmt, Bil. ++, Diazo spät, Lipämie unwesentlich)	—	180	—	220	270	250	T 2
3	Phenylendiamin (klinisch fehlt manches; B.Z., R.-N, Lipämie ziemlich normal, Bil. +, Hb. +)	270 / 220	—	300	325	340	350	T 3
4	Alkohol (akut, schwerst; Lec. der Erythroc. erheblich gesenkt, Hb. +, Bil. leicht +, B.Z. 0,17, R.-N leicht vermindert)	—	240	—	—	280	260	T 4
5	Alkohol (6 Tage dauernd; Lec. der Erythroc. gesenkt, sonst klinisch Ø, leichte Sklerose)	—	—	150	140	180	160	T 5
6	Chinin (nahezu letale Dosis, Erblindung; fast klinisch Ø)	175	—	220	—	245	265 / 250	T 6
7	Kohlenoxyd (klinisch fast Ø; CO-Hb. nachgewiesen, Bil. Spur)	—	—	280	300	320	300 / 290	T 7
8	Lysol (extrem)	190	225	240	260	275	290	T 8

nicht angeschnittene Gebiet der Phosphatide der Erythrocyten hinein.

Tabelle IX enthält Fälle weiterer Erkrankungen[1]). Diese Beobachtungen gehören gleichfalls beschreibenden Lipämieuntersuchungen an. Besondere Bedeutung gewinnen die Ödemkrankheit[2]) mit Hydrämie, sehr gesenktem Lipoid-P, die Avitaminosen[1]), sowie die schweren Muskelerkrankungen[1]). Diese spielen analytisch, was die Wiedergabe der Lecithinämie angeht, in die vergleichende Methodik extremer Zahlen hinein (Tabelle X, Inkonstanz und praktische Unzuverlässigkeit der

[1]) Diese und weitere Fälle sind bisher nicht gesondert mitgeteilt.
[2]) Über Ödem I, l. c.

Tabelle IX.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung I. Isolierung nach den aufgeführten Methoden. Analyse durch die (verbesserte) Strychninphosphormolybdat-Nephelometrie. Lecithinzahlen berechnet aus dem P nach dem Schema von Bloor. mg für 100 ccm Serum. Reihe C. Beobachtungen an Krankheitsfällen. 12. Einzelne Fälle.

Lfde. Nr.	Fälle (Nebenangaben im Text)	Trocknung m. Wasser (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein u. Dinkin	Trocknung (Vakuum) über Cellulose Gettler u. Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp u. Lesser	Pikrinsäurefällung Greenwald	Alkohol-Äther-Extraktion Bloor	Zeichen betr. auch frühere Mitteilungen
1	Addison (typischer Fall)	—	200	240	260	280	260	Ad 1
2	Basedow (mit typisch. Erscheinungen)	300	—	280	—	310	300	Bd 1
3	Apoplexie (nicht näher definiert, doch geringe Befunde)	270 320	300 340	340	360	400	360	Ap 1
4	Ödemkrankheit (auf alimentärer Basis [Feigl, Knack, Neumann]; zeigen X gesenkt, XII erhöht) . . .	40 25	50	60	—	70	75 65	Oe 1
5	Ödemkrankheit (zeigen X gesenkt, XII erhöht)	60 35	55	75	90	80	85 90	Oe 2
6	Avitaminose (Skorbut; typischer Endverlauf [Feigl, Luce])	—	—	110	120	85	110	Ar 1
7	Myasthenie (Nebenbefunde folgen später)	—	—	190	—	210 220	180 190	Mya 1
8	Muskelschwund (akut; Nebenbefunde folgen später) . . .	—	180	—	220	220	250	Mu
9	Muskeldystrophie (frisch; schneller Befund)	240 140	—	—	210	210 220	160 150	Md 1
10	Muskeldystrophie (längerer Verlauf, stationär)	100	130	—	170	200	180	Md 2
11	Amyotonie (Oppenheim; Nebenbefunde später) . . .	—	—	170	—	210	190	Am 1

(Nr. 7–11: pathol. Befunde im R.-N-Gebiet sowie im Rest-P [z. Zeit. hoch])

alten Werte). Gleichfalls kommt die Frage nach dem Verhalten des krystalloiden P (besonders des Rest-P) speziell bei gewissen Muskelerkrankungen in Betracht.

Faßt man die Ergebnisse an dem vorstehenden vielseitigen, klinischen Material zusammen, so ersieht man das Folgende über die Möglichkeiten der Isolierung.

Die Methoden von Bloor und Greenwald isolieren die höchsten Beträge an lipoidgebundenem Phosphor.

Ähnliche Befunde, die aber zumeist schon geringer sind, vermittelt die Alkoholfällung mit anschließender Ätherextraktion, die ein älteres Verfahren darstellt, das beim Lecithin des Plasmas von Stepp und von Lesser, und in entsprechender

Form beim Gesamtcholesterin von Weston und Kent benutzt wurde. Die Befunde werden in Abhängigkeit vom chemischen Bau des Plasmas inkonstanter.

Die Ergebnisse der übrigen Methoden bleiben hinter den obigen Befunden zurück und stellen die Lecithinämie in verringerten Zahlen, aus denen eine fälschliche Beurteilung resultieren muß, dar.

Diese Abweichungen sind weder konstant gegen die tatsächlichen Höchstwerte, noch sind sie in zureichendem Grade durch Übereinstimmung bei Parallelanalysen gekennzeichnet.

Von den Isolierungen aus nicht denaturiertem Protein stellt sich die schonende Vakuumtrocknung am besten (Gettler und Baker). Diese kann aber, ebensowenig wie es für die Wasserbindung mit Natriumsulfat (Klein und Dinkin) zutrifft, quantitative Zahlen vermitteln. In analytischen Verhältnissen sind diese Methoden, die mit Sorgfalt der schwierigen Aufgabe unbeschadeter Isolierung von Lipoid-P (die im Gegensatz zum Cholesterin und zu den Fettsäuren nur auf ganz oberflächliche Abartung des Originalzustandes von nativem Serum zu gründen ist) gerecht werden wollen, im Prinzip verfehlt. Die völlige Extraktion ist nur durch zureichende Denaturierung der Proteine, mit der eine Spaltung lockerer Bindungen des Lecithins einhergehen dürfte, überhaupt erzielbar. Die von den älteren Untersuchern benutzte Trocknung ist zu verwerfen; ihre Leistungen sind quantitativ im Vergleich sehr schlecht, überdies inkonstant und unkontrollierbar. Die Zahlen nach solchen Arbeitsweisen sind unbedingt zu verwerfen.

Die Untersuchung an breiten pathologischen Materialien hat darum m. E. besonders wertvolle Aufschlüsse gegeben, weil die Isolierung des lipoidgebundenen Phosphors nicht nur von seinem ursprünglichen Bindungszustande und Verhalten im Verlaufe der Methoden allein abhängt, sondern weil die übrige Zusammensetzung des Serums maßgebende Einflüsse durchsetzt.

Diese bestehen in folgenden Zügen. Der nicht fällbare, krystalloide Phosphor kann verschiedener Natur sein. Die Gesamtsumme des fällbaren Phosphors kann unter besonderen Verhältnissen eigenartig gebaut sein. Der Komplex von Fett und Lipoiden kann Einfluß auf die Ergiebigkeit der Extraktion erlangen. Der Lösungszustand von Fett, Seifen, Lipoiden kann

beeinflußt werden (maskierte Lipämien). Hier stehen die Gallenstoffe obenan. Die krystalloiden Stoffe des Plasmas, die Abstufungen der Harnsäure usw. wirken mit.

Auf diesem Wege ist es möglich gewesen, die Unbrauchbarkeit alter Verfahren und den Unwert ihrer Ergebnisse darzutun. In allen Komplikationen stellen sich die Schwierigkeiten weiter in den Vordergrund. Die besonderen Eigenschaften modifizieren die Verfahren nach bestimmten Richtungen.

Die bisher kaum angedeutete, ja fast gänzlich fehlende Kenntnis der neuen Methoden von Bloor und Greenwald ist auf Grund der Untersuchungen Feigls über krystalloiden Phosphor nunmehr möglich geworden. Die Erneuerung der Vorstellungen über Plasmalecithin, die seit Einführung dieser Verfahren (1915) datiert, gewinnt erst durch diese Feststellungen inneren Grund und Umgrenzung der beschreibenden Verhältnisse.

Zu diesem Zwecke — der Kenntnis von Interferenzen der Lecithinbestimmung in ihrer Abhängigkeit von den übrigen Komponenten des Serums — sind die entscheidenden Vorkenntnisse aus dem Materiale der Gesamtuntersuchung tabellarisch zu den Gliedern der Gruppe II formuliert worden. Ihr gehören die Tabellen X, XI, XII an.

Auch diese zeigen die Überlegenheit der neuen Methoden. Tabelle X enthält Seren mit hohen Lipämien und hohen Lecithinämien ohne entscheidende Interferenzen. Dann erscheinen Hypolipämien usw. mit gesteigertem Wassergehalt (Hydrämien). Die Extraktionen nach Bloor und nach Greenwald stimmen prinzipiell und praktisch durchaus zufriedenstellend überein. Die (ältere) Alkoholfällung mit nachfolgender Extraktion arbeitet in diesem Gebiete zureichend. Bei hohen Lecithinämien und Lipämien stellen sich die nicht denaturiertes Serum (Trocknung, Wasserbindung) voraussetzenden Techniken immerhin vergleichsweise günstig. Das mag seinen Grund darin haben, daß die von Greenwald u. a. gebührend hervorgehobene, sonst genügend (s. o.) belegte unvollständige Extraktion durch dieses Vorgehen (Dicke der Masse des vorliegenden Materiales an ätherlöslicher usw. Substanz) bedeutend günstigere Vorbedingungen findet. Auch die grobe Trocknung steht hier, obschon prinzipiell abzulehnen wegen der schlechten Zahlen, relativ (gegen sonstige Seren mit belastenden Interferenten) günstig da.

Tabelle X. Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung II.

Verhalten extremer Lecithinämien im Gefüge different chemischer konstituierter Seren bei verschiedener Aufarbeitung. Isolierung nach den beschriebenen Methoden. Analyse durch Strychninnephelometrie. Berechnung schematisch nach Bloor.

Reihe A: Extreme Lecithinämien (ohne hohe Beträge im Gebiet des krystalloiden P) bei wechselndem lipämischen Komplex.

Laufende Nr.	Zeichen	Natur der Fälle (lipämischer Komplex)	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein-Dinkin	Trocknung (Vak.) in Cellulose Gettler-Baker	Alkoholfällung-Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinsäurefällung Greenwald	Alkoholätherextraktion Bloor
1	Tabelle II, Pp 1	Starke Anstrengung Marsch (gesenkt: B 2, Chol., Ges.-Extrakt, siehe dort)	40	—	65	75	85	100
2	Tabelle II, Pp 4	Reduziert (Kriegsunterernährung) (B Z, Chol., Ges.-Extrakt gesenkt) s. dort	30	40	50	—	60	65
3	Tabelle III, Pp 8	Adipositas Erhöhungen im Lipämiekomplex	250	—	280	290	340	320
4	Tabelle III, Pp 11	Gravidität kurz ante partum, Chol. erhöht (bes. Ester) Fett dgl.	270	270	300	—	350	375
5	Tabelle VI, Wa.+12	Tabes: Extr. 1650,0 Ges.-Fett 1000,0; Chol. 400,0 mg (75 % Ester)	380 520	470 530	520 580	550 570	580 620	600
6	Tabelle VI, Wa.+14	Tabes maximale Hyperlecithämie 72 % bei noch ger. Ges.-Extrakt und Cholest. 310,0 mg (nur 12 % Ester)	510 610	620	700	770	800	810
7	Tabelle VI, Wa.+1	Icterus cat. (Lues, Hg, Salvarsan) Ges.-Extr. 2630,0. Ges.-Fettsäure 1300,0 mg, Chol. 1220,0 mg (58 % Ester)	200 300	320	250	290	340 320	310
8	Tabelle III, DL 1	Schwerer Diabetes (Acidose, Lipämie) Ges.-Extr. 10,0 g, Fett 66 %, Chol. 20 %	700 600	700 720	800	850	900	920 880
9	Tabelle III, DL 3	Schwerer Diabetes, abkling. Lipämie, Ges.-Extr. 17,0 g, Fett 72 %, Chol. 18 %	340	320	350	390	400	390
10	Tabelle IV, LG 7	Cirrhose (Alkohol) Ges.-Extr. 970,0 mg Fett 400,0, Chol. 510,0 mg (80 % Ester)	—	300	330	—	430	400
11	Tabelle VII, B 11	Perniz. Anäm. Ges.-Extr. 900,0 mg Bil. +, Fett 380 mg, Chol. 100,0 mg (85 % Ester)	250	—	300	—	350	355
12	Tabelle VII, B 12	Perniz. Anämie Extr. 1100,0 mg, Fett 480,0 mg, Cholest. 160,0 mg (80 % Ester)	—	375	400	—	450	470

Bei Hypolecithinämien versagen alle Methoden, außer denen Bloors und Greenwalds. Tabelle XI gibt eine gedrängte Erörterung einer Frage, die ihrer Wichtigkeit nach für die Verhältnisse des extrahierbaren Phosphors an der Spitze steht und der entscheidende Bedeutung insonderheit für die vergleichende Beurteilung der neuen Methoden innewohnt. Die hier erörterte wichtige Aufgabe der Kritik von Leistung, Einfachheit und Stichhaltigkeit der Lecithinbestimmung, spez. zunächst der Angelegenheit einer quantitativen Isolierung durch die neuen Methoden sichert zugleich auch die beschreibenden Untersuchungen von Feigl über Vorkommen, pathochemische Zusammenhänge, Mengenverhältnisse, Natur, Gliederung des krystalloiden (säurelöslichen) Phosphors unter Voranstellung des komplexen Rest-P. Zur näheren Veranschaulichung sind die Einzelgrößen (Fraktionen, Unterteile) der P-Verteilung aufgeführt und einander gegenüber geordnet. Das Problem der quantitativen Isolierung von lipoidgebundenem Phosphor trifft, was hier an (immerhin praktisch seltenem, doch nach dem pathologischen und methodischen Interesse) besonders wichtigem Materiale belegt erscheint, hart auf die Anwesenheit und Interferenz krystalloiden Phosphors auf. Die Frage ist weder von Greenwald noch von Bloor richtig erfaßt und beurteilt worden, da beiden Forschern Kenntnisse über Extreme des Rest-P fehlten[1]). Die Tabelle belegt aufs neue die Natürlichkeit der alten Verfahren. Sie sind hier z. T. im fälschlichen Ausgleich (gegenseitige Kompensation durch fehlende Teile des lipoiden und durch Mitaufnahme des krystalloiden, restlichen P, s. u.) gekennzeichnet. Die Methode Greenwalds ist hier der zuverlässigste Maßstab, da die Werte nach Bloor durch die (teilweise, im einzelnen nicht abschätzbare) Mitaufnahme krystalloiden Phosphors fälschliche (nicht unbeträchtlich zu hohe) Werte gibt bzw. u. U. geben kann.

Die Tabelle ist die erste Unterlage über vergleichende Kritik der beiden Methoden. Von der Anwendbarkeit der Zahlen nach Bloor in gewissen Verhältnissen ist hier zu sagen, daß sie

[1]) Die Versuche Bloors über das Verhalten seines Extraktionsverfahrens zu anorganischem P haben wir oben besprochen. Sie sind nicht durchaus überzeugend und bedürfen späterer Nachprüfung und Ergänzung durch den besonders wichtigen Rest-P.

Tabelle XI.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung II.

Verhalten extremer Lecithinämien im Gefüge different chemisch konstituierter Seren bei verschiedener Aufarbeitung. Isolierung nach den beschriebenen Methoden. Analyse durch Strychninnephelometrie. Berechnung schematisch nach Bloor. Reihe C. Verhalten gewisser Lecithinämien (mit beliebigen Beziehungen) bei Isolierung durch Extraktion und Fällung. (Beitrag zur Methodik und Kasuistik des fällbaren P.)

Laufende Nr.	Zeichen	Natur der Fälle	Gesamter krystalloider P zu Lipoid-P mg	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein-Dinkin	Trocknung (Vak.) in Cellulose Gettler-Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinsäurefällung Greenwald	Alkoholäther-Extraktion Bloor	Selbständig best. Gesamt-P (fällbar u. krystalloid) mg
1	Tabelle VII, Blut 1	Leukämie krystalloider P 7,0 mg	7,0 : 10,2	190	200	220	260	320 Lipoid-P	270 10,0 mg	19,0
2	Tabelle VII, Blut 2	Leukämie krystalloider Rest-P 6,0 mg	6,0 : 10,0	{200 160}	180	170	{230 240}	360 330 Lipoid-P	280 10,0 mg	17,8
3	Tabelle VII, Blut 3	Leukämie krystalloider P 8,0 mg	8,0 : 15,0	320	300	250	—	490 Lipoid-P	410 15,0 mg	26,0
4	Tabelle VII, Blut 4	Leukämie krystalloider P 5,0 mg	5,0 : 10,0	160	200	170	—	290 Lipoid-P	260 10,0 mg	16,2
5	Tabelle III, Gicht 1	Arthritis uric. krystalloider P 3,0 mg	3,0 : 10,0	190	210	240	260	290 Lipoid-P	250 10,0 mg	14,2
6	Tabelle V, Niere 3	Nephrose krystalloider P 8,0 mg	8,5 : 10,0	180	—	230	—	320 Lipoid-P	270 10,0 mg	20,5

Zusammenfassung: Auf den Gesamt-P berechnen sich in der Fällung steckende Überschüsse (nichtlipoider fällbarer P, differential gegen Bloor abgerundet errechnet 2,0 mg, 10% (Nr. 1); 1,7 mg, 10% (Nr. 2); 3,0 mg, 12% (Nr. 3); 1,2 mg, 6% (Nr. 4); 1,2 mg, 7% (Nr. 5); 2,0 mg, 10% (Nr. 6).

Bemerkungen: Nach dem niederen Werte (Bloor) ist der Lipoid-P eingesetzt; in Tabelle X (hoher krystalloider P) nach der Fällungszahl (Greenwald).

Tabelle XII.

Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung III.

Verhalten extremer Lecithinämien im Gefüge different chemisch-konstituierter Seren bei verschiedener Aufarbeitung. Isolierung nach den beschriebenen Methoden. Analyse durch Strychninnephelometrie. Berechnung schematisch nach Bloor.

Reihe B. Extreme Lecithinämien [verknüpft mit hohen, variierten Beträgen im kryst.] (säurelösl., anorganischem, restlichem) P.

Laufende Nr.	Zeichen	Natur der Fälle (lipämischer Komplex)	Gesamter krystalloider P zu Lipoid-P mg	Trocknung mit Sand (alte Methode) Glikin-Peritz	Wasserbindung mit Na_2SO_4 Klein-Dinkin	Trocknung in Cellulose Gettler-Baker	Alkoholfällung, Extraktion Stepp-Lesser	Pikrinsäurefällung Greenwald	Alkoholäther-Extraktion Bloor	Selbständig best. Gesamt-P (fällbar u. krystalloid) mg
1	Aus Tab. IV, Nr. 10	Akute Leberatrophie Phosphat-P 4,0 mg, Rest-P 2,0 mg	6,0:10,0	150	—	200	—	260	270	16,0
								Lipoid-P ca. 10,0 ccm		
2	Aus Tab. IV, Nr. 11	Dgl. terminal Phosphat-P 6,0 mg, Rest-P 5,0 mg	11,0: 1,5	25	20	30	35	30	40	22,0
								Lipoid-P ca. 1,1 mg		
3	Aus Leberatrophie III, d. Z. 1918	Dgl. terminal Phosphat-P 14,0 mg, Rest-P 8,0 mg	20,0: 3,0	{25, 85}	90	110	120	72	95	22,4
								Lipoid-P 3,0 mg		
4	Tabelle IX, Nr. 6	Avitaminose Phosphat-P 5,0 mg, Rest-P 5,0 mg	11,0: 4,0	—	—	110	120	85	110	14,8
								Lipoid-P 4,0 mg		
5	Tabelle IX, Nr. 9	Muskeldystrophie, akut, schneller Verl. Phosphat-P 5,0 mg, Rest-P 5,0 mg	10,0:8,1	—	180	—	220	220	250	18,0
								Lipoid-P 8,1 mg		
6	Tabelle IX, Nr. 5	Ödemerkrankung, aliment. Phosphat-P 6,0 mg, Rest-P 1,0 mg	7,0: 3,1	{60, 35}	55	75	90	80	{90, 85}	10,2
								Lipoid-P 3,1 mg		
7	Tabelle V, Niere, 1	Chron. Nephritis Phosphat-P 18,0 mg, Rest-P 3,0 mg	21,0:14,0	{230, 470}	200 240	300 320	360 370	390 380	{340, 350}	34,9
								Lipoid-P 14,0 mg		
8	Tabelle V, Niere, 2	Dgl. Phosphat-P 13,0 mg, Rest-P 6,0 mg	18,0:18,0	{260, 340}	320 340	{360, 380}	380	495 480	{460, 440}	35,7
								Lipoid-P 18,0 mg		
9	Tabelle V, Niere, 7	Akute Glomerulonephritis, Phosphat-P 20,5 mg, Rest-P 1,5 mg	22,0:10,0	{105, 160}	170 210	200 240	200 230	240 260	{270, 280}	31,8
								Lipoid-P 10,0 mg		

gelegentlich zu widerraten sind und daß sie bei absolut niederem Lecithin-P geradezu (in wohl praktisch noch seltenen Fällen) als fälschlich zu beargwöhnen sind. Die Tabelle lehrt ferner als erstes Material die Nützlichkeit (und Notwendigkeit), die beiden, prinzipiell verschieden fundierten Isolierungen des Lecithin-P in den meisten verwickelten Fällen nebeneinander zu benutzen.

Die Tabelle enthält ferner durch die (absolut) zahlenmäßigen Angaben über die Einzelglieder des gesamten P-Komplexes Unterlagen über die beschreibende Darstellung und die objektive Realität der jetzt vom Verf. angenommenen P-Verteilung.

Tabelle XII bietet zusammengezogenes Beobachtungsmaterial über die Verhältnisse der Isolierung des lipoidgebundenen P in pathologischen Umstimmungen, die das nötige Gegenstück zu dem in Tabelle XI Gebotenen enthalten. Die aufgeführten Fälle (aus größeren Zahlen von Einzelbeobachtungen und in dem prozentischen Vorkommen nach diesem Verhalten noch kaum genügend gekennzeichnet) belegen durch P-Verteilung und Gegenüberstellung der Einzelglieder, daß es Anlässe gibt, in denen der durch Fällung isolierte P höher (nicht unbeträchtlich) erscheint als der durch Extraktion nach Bloor. Hier müssen komplexe, kolloide oder mindestens im Reaktionsgefüge fällbare, alipoidische höhere P-Verbindungen vorausgesetzt werden. An ihnen sind nach Kenntnis der betr. pathologischen Verhältnisse Nucleingebilde bei Uricämien denkbar. Die Methoden, die zersetzlichen P-Komplexen keinen genügenden Schutz zu gewähren vermögen, und die überdies durch sekundär hervorgerufene Löslichkeitsbeeinflussung diese mitzunehmen vermögen, versagen grundsätzlich in Gestalt fälschlich hoher Werte, die in gegenseitiger Kompensation durch Defizit (Lipoid-P) und Mitaufnahme (alipoidischer P) beruhen dürften. In solchen Fällen versagt die Methodik nach Greenwald, oder ist doch zuzeiten so beeinflußt, daß ihre Zahlen mit Vorsicht zu verwerten sein müssen. Die Anwendung des Verfahrens von Bloor trete dann an die erste Stelle. Besser ist noch die vergleichende Benutzung der Ergebnisse beider parallel zu handhabender Verfahren.

Im Sinne der Tabelle X ist die P-Verteilung aufgeführt; ihre Glieder weisen auf die Anwesenheit von alipoidischem fällbaren P.

Sie ist ferner die zweite experimentell gefundene Erkenntnisgrundlage für die vergleichende Beurteilung der Leistung und Anwendbarkeit der beiden neuen Isolierungsverfahren von phosphatidgebundenem P.

Wir kommen nun zur endgültigen Beurteilung der methodischen Verhältnisse der Isolierung von lipoidgebundenem Phosphor aus Blutserum und berücksichtigen besonders die beiden neuen Verfahren. Die Bewertung hat die reine praktische Handhabung sowie auch den theoretischen Sinn ihres Verhaltens zu berücksichtigen.

Beides kann in zureichender Weise, die allen in Betracht kommenden Kombinationen gerecht wird, nur durch breite Anwendung unter den verschiedensten Verhältnissen pathologischer Umstimmungen geschehen. Diese Forderung dürfte in weitgehendem Grade erfüllt sein. Eine klare Durchdringung des Charakters ihrer Wirkung ist auf Vorkenntnisse über die Erscheinungen der P-Verteilung angewiesen. Auch diese einschlägige Vorarbeit ist durch ausgedehnte Beobachtungen an heterogenen Materialien tunlichst gefördert worden.

Die prinzipiellen Fehler der alten Verfahren lassen sich an pathologischen Seren belegen; dabei ergibt sich, daß diese in hohem Grade zur Inkonstanz und zur Unabsehbarkeit der Wechselwirkungen führen. Jedenfalls gelingt eine zutreffende Analyse kaum je.

Die neuen Methoden geben trotz des sehr verbreitet gewährleisteten Ausschlusses fremder (alipoidischer) P-Verbindungen die höchsten Werte für Gesamtphosphatid. Sie liefern auch bei sehr erschwerten Vorbedingungen (aus Art und Beschaffenheit der Seren) gute Parallelzahlen. In Beziehung zu den interferierenden P-Stoffen leisten sie, abgesehen von wirklichen Extremen (die praktisch selten und nunmehr im Prinzip abzugrenzen sind), stets Gutes; ihre Zahlen stimmen, weit vorherrschend, tadellos überein. Hohe Lecithinämien und hohe Lipämien (Cholesterin, Fett) stören nicht, sehr abgesenkte ebensowenig. Die abnormen Löslichkeitsverhältnisse des lipämischen Komplexes (Maskierung) wirken nicht beengend, ebensowenig Zucker, Salze, Farbstoffe und Chromogene, die Glieder des Rest-N-Gebietes. Mäßig (selbst stärker) hinaufgesetzte Phosphatämien (mit geringem Rest-P) modifizieren die Anwen-

dung des Verfahrens nach Bloor kaum. Rückt der Rest-P mäßig herauf, so können geringe Störungen sich bemerkbar machen, Extreme schließen die Benutzung der Zahlen bei gleichzeitig niedrigen Lecithinämien aus. Hohe und höchste Zahlen für Phosphat-P können vermutlich in gewissen Kombinationen leichtere Beeinträchtigungen von nicht geringer Bedeutung mit sich bringen. Der fällbare, alipoide P greift nicht ein.

Die Anwendung der Methode von Greenwald wird nicht durch den krystalloiden (nicht fällbaren) P beengt; er verdankt ihr seine Auffindung und die Erschließung seines Wesens. Sie zieht den lipoiden P und einen alipoidischen, fällbaren P zusammen. Es gibt pathologische Verhältnisse, in denen letzterer anwächst und durch den lipoiden P fälschlich steigert. Sie sind selten.

In obigem sind durch Vergleich die Grenzen der Anwendung für die beiden differenten Verfahren gezogen. Die pathologischen Verhältnisse, die diese bestimmen, sind genugsam beschreibend in den Wertausdrücken festgelegt. Aus den Angaben kann man sich über die zweckmäßige Benutzung der maßgebendsten Methode schlüssig werden. Mit besonderem Nachdruck sei die parallele Anwendung beider Methoden empfohlen; man erzielt die Ergebnisse über den säurelöslichen P gleichzeitig mit. Dies Vorgehen ist für Spezialfälle dringend zu empfehlen. Solche sind selten genug, so daß man eine häufige Belastung nicht zu gewärtigen braucht. Sie sind überdies prinzipieller Natur und müssen nach der Häufigkeit in gewissen Krankheiten zahlenmäßig umgrenzt werden.

Die beiden neuen Isolierungsmethoden sind in der Handhabung nicht schwierig. Sie hängen von genauer Messung des zu prüfenden Serums ab. Sie sind prompt und sicher ausführbar und geben ziemlich haltbare Anreicherungen (Extrakt, Fällung) der gesuchten und weiter aufzuarbeitenden Stoffe. Sie sind den alten Extraktionen, die trotz niemals quantitativer Leistung (spez. bei nicht koaguliertem Protein) schleppend, langfristig und unbefriedigend sind, unendlich überlegen. Sie eignen sich zur Reihenarbeit, an der sehr viel gelegen ist, setzen wenig Serum voraus, was zur Durchführung anderer wichtiger Analysen derselben Probe dienlich ist, sind operativ und reaktiv preiswert. Die Reagentien müssen jedoch sorgfältig behandelt sein. Ihre

sinngemäße und auch leicht modifizierbare Übersetzung in größere Maßstäbe stößt nicht auf Schwierigkeiten. Der besondere Wert der Technik von Bloor ist der, daß dieselbe Vorbehandlung den Analysen an Cholesterin (Gesamt, Ester) und Fett gerecht wird, — ein Vorteil, der nach jeder Richtung hoch anzuschlagen ist. Die Fällung nach Greenwald bringt die (praktische, z. B. Nephritis u. a.) Möglichkeit einer Analyse des krystalloiden P ohne weiteres mit sich. Beide Methoden liefern in großer Ausdehnung (s. o.) praktisch (und auch theoretisch) gleich stichhaltige Werte für den lipoidischen P. Sie können daher nach Wahl (und Hilfsmitteln) in Anwendung gezogen werden. Sie eignen sich als Methoden der laufenden (diagnostischen und wissenschaftlichen) Arbeit aus genannten Ursachen. Sie sind in der Hand des sogen. „mittleren Personals“, wenn dieses gut geschult ist, brauchbar.

Ihr Hauptverdienst liegt darin, die gesamte Kenntnis von Plasmalecithin zugleich neu formuliert zu haben.

Die älteren (bis 1915) Zahlen waren inkonstant, unkontrollierbar, zu niedrig. Daran war nur die Isolierung des gesuchten lipoiden P schuld. Ebenso und in derselben Richtung wirkt die hoch genug zu bewertende Möglichkeit breiter Anwendung. Diese letzteren Faktoren fördern die neue Arbeit um die Theorie des Lecithins von Blut und Serum in Physiologie und Pathologie. Dies beweisen bisherige, zu erweiternde Untersuchungen.

Bei der Mineralisierung (Säuregemischveraschung, auch andere Verfahren sind möglich) machen die Anreichungen nach beiden Methoden keine Schwierigkeiten. Die Fällung ist mit dem Protein-N belastet und bedarf daher längerer, wie nachdrücklicherer Einwirkung.

Die nutzbringende Anwendung der Isolierungsverfahren von Bloor und Greenwald im mikrochemischen Bereich, der verschieden zu wählen ist, hängt von der Feinheit der Bestimmungsmethoden der Phosphorsäure ab.

Versuchen in dieser Richtung dient die zusammengezogene Tabelle XIII, die über vergleichende Analysen nach den beschriebenen Methoden berichtet.

Es erscheinen exakt — nach Bestimmungen an reinen Lösungen — der Mikro-Neumann, die Strychnin-, die Silber-

Tab. XIII. Vergleichende Untersuchungen über Lecithinbestimmung III.

Anwendung einzelner mikrochem. Verfahren der Phosphorsäurebestimmung auf die Asche von Seren. Vergleichende Prüfung bisher nicht in Benutzung gezogener Methoden. — Die Maßstäbe der betr. Analysen sind dem Schema angepaßt. — Zahlen in mg für 100 ccm Serum bzw. Punktat.

Untersuchungs-material	Nephelometrie des Silberphosphates Bloor	Analyse mit Hilfe der Glieder des PMo-Komplexes oder durch diesen (nach verschiedener Herstellung) im ganzen									Weitere Abwandlungen des PMo-Komplexes		
		Titration nach Neumann		Reduktion und Colorimetrie des Mo Mikrochemisch			Bestimmung des Ammoniaks colorimetrisch		Bestimmung als PMo_4 gravimetrisch Ibbotson-Raper	PMo-Nitrokomplex Volumetrie der Fällung	Strychninfällung nephelometr. Original Kober-Egerer	PMo_4-Komplex colorimetrisch Misson	PMo-Komplex colorimetrisch (direkt) Jolles
		Makrochem. Neumann bzw. Gregersen	Mikrochem. Taylor und Miller (Bowser)	Taylor und Miller Mo-Nitrat-komplex	Taylor und Miller Mo-Sulfat-komplex	Riegler	aus PMo-Nitro-kompl.	aus PMo-Sulfokomp. Falk-Sugiura					
„Lipoid-P" (Bloor)	8,2	8,0	8,1	8,4 / 8,2	8,5	—	—	—	—	—	8,12 / 8,22	—	—
„Lipoid-P" (Greenwald)	10,5	10,2	—	10,5 / 11,0	—	—	9,5 / 9,8	10,2 / 10,6	10,3	10,0 / 10,2	10,45 / 10,57	10,38 / 10,54	10,27 / 10,60
„Säurelöslicher P" (Greenwald)	22,0	21,2	21,8 / 21,7	23,2 / 23,0	22,8	23,5	20,7	21,5 / 22,0	21,7 / 22,0	20,0 / 18,8	22,0 / 22,1 / 21,9	22,2 / 21,8	20,9 / 23,1
„Säurelöslicher P" (Greenwald)	10,3	10,2	10,2 / 10,4	10,7 / 9,9	—	—	—	10,1 / 9,6	—	9,6 / 10,6	10,3 / 10,27 / 10,31	10,25	—
„Total-P" (Neumann)	30,2	30,0 / 29,7	30,1 / 29,8	30,0 / 30,2	28,5	29,9 / 29,7 / 29,8	28,2 / 28,9	29,9 / 28,9 / 28,9	30,0 / 30,1	29,7 / 31,0	30,15 / 30,22 / 30,20	30,18	27,9 / 31,0
„Total-P" (Fraktion verascht)	12,7	12,5	12,8 / 12,5	13,0 / 12,5	13,5	—	12,9 / 12,4	12,4 / 12,9 / 13,1	12,8	11,5	12,75 / 72,69	12,65	—
„Lipoid P" (Bloor)	40,0	38,7 / 39,5	40,2 / 39,6	41,1 / 39,3	—	—	—	39,3 / 39,7	39,7	38,6	39,97 / 40,12 / 40,07	39,9 / 40,15	—
„Lipoid-P" (Bloor)	20,2	20,1 / 19,95	20,15 / 20,3	20,4	—	—	—	19,8	20,1	—	20,25 / 20,17	20,29	—
„Rest-P" (Feigl) . .	4,5	—	4,47	4,60	—	—	—	4,70	—	—	4,49 / 4,53	4,90	—
„Rest-P" (Feigl) . .	2,7	—	2,8	3,0	—	—	—	3,2	—	—	2,65 / 2,75	2,90 / 2,62	—
„Total-P"	18,0	17,7	17,9	18,4	—	—	—	18,5	18,1	—	18,12	18,20	—
„Lipoid-P"	2,0	—	2,1	2,3	—	—	—	—	—	—	2,17 / 2,20	—	—
„Säurelöslicher P" .	10,0	9,9	10,1	10,15	—	—	11,0	10,20	10,07	—	10,07	10,8	—
„Rest-P"	1,8	—	1,9	2,0	—	—	—	2,0	1,92	—	1,78 / 1,83	2,1	—

Punktate, Mischseren bzw. Aderlaßseren. Herstellung der Asche aus Extrakt, aus Fällung, aus Filtrat und Totalserum. Die Analysenzahlen haben nur horizontale (methodisch) Vergleichsmöglichkeit, keine innere (vertikale) Verkettung.

phosphat-Nephelometrie. Sie nähern sich stark an die Vanadinmethode und die Mo-Blaumethode (Reduktion) als Colorimetrien. Die Gravimetrie ist exakt, wie reine Lösungen beweisen.

Aussichtsreich sind nach dem vorliegenden Materiale also die von den bisher nur erwähnten bzw. zu ganz anderen Zwecken gedachten Methoden die Mo-Blau-Colorimetrie, die Vanadin-P-Mo-Colorimetrie in erster Linie. Immerhin bei weiterem Eindringen versprechend erscheint die NH_3-Colorimetrie aus dem PMo-Komplex (Kleinmann).

Die Einzeltatsachen der tunlichst exakt, daher nicht genügend im Betriebe auf die rein praktische Handhabung geprüften Methoden, sowie die Diskussion der Abweichungen dürfte sich erübrigen, seit sich zeigen ließ (durch obige Versuche), daß die an der Spitze des Kreises stehende Strychninnephelometrie durch (allerdings weniger empfindliche, aber immerhin genaue) Verfahren anderen Charakters ersetzbar ist[1]).

Die Handlichkeit des Mikro-Neumann ist zum ersten Male an größerem (biologischem) Materiale erwiesen, die Ammoniakbestimmung überhaupt zum ersten Male in den Bereich der Praxis gezogen worden. Die Mikrovolumetrie des totalen PMo-Komplexes geht guten Aussichten entgegen.

Schlußsätze.

In der vorstehenden Mitteilung wird die Aufgabe der Isolierung und Bestimmung des phosphatidischen Phosphors im Blute behandelt.

Es wird auf die Bedeutung zuverlässiger Werte, auf die geringe Brauchbarkeit älterer Methoden und Ergebnisse und auf den Kreis der einschlägigen Fehler hingewiesen.

Die Feststellungen werden an umfangreichem und in seiner Natur weit variiertem Material von Seren angestellt. Die Entscheidung liegt bei Vorbehandlung und Isolierung. Dazu dienen die Typen der älteren und neuesten Methoden.

Diese sind 1915 vorgeschlagen worden und seither dauernd in allen Verhältnissen vom Verf. gebraucht worden.

---

[1]) Die vielen analytischen und experimentellen Einzelheiten des Gebietes bearbeitet mein Volontärassistent H. Kleinmann.

Über ihre Kenntnis und ihren Wert fehlten bisher noch jede Angaben. Sie bringen die Theorie der Lecithinämie im gesunden und kranken Blute erheblich weiter und sind außerordentliche Fortschritte im Kreise der einschlägigen Methoden und der begrifflichen wie der theoretischen Vorstellungen.

Ihre Kritik kann einesteils auf den Vergleich mit den älteren Formen der Gewinnung des lipoidgebundenen P gestellt werden. Das Vorgehen bleibt auch an breitem und vielseitigem Materiale lückenhaft und bringt die erprobte Entscheidung nicht weiter, wenn nicht die besonders von Feigl ausgebauten Befunde über krystalloiden Phosphor des Serums einbezogen würden. Ein weiteres Problem liegt in der Kennzeichnung der Tatsache und Abgrenzung praktischer Folgen derart, daß die Fällungsisolierung eine andere Zusammenfassung liefert als die Extraktion. Es wird dargetan, daß es bestimmt geartete pathologische Konstitutionen des Blutserums gibt, in denen der fällbare lipoidische P mit einem vergleichsweise hohen Betrage an anderem, ebenso reagierenden, belastet ist. Solche Abweichungen lassen sich beschreiben und charakterisieren. Bei ihnen ist die Isolierung durch Fällung im Prinzip nicht anzuraten, da der gleiche Lipoid-P erhöht befunden wird. Umgekehrt gibt es phosphatämische Zustände, in denen der krystalloide P (besonders der komplexe, restliche) nicht unerheblichen, gelegentlich starken Einfluß auf die Gestalt der Zahlen gewinnt, die auf der Extraktionsmethodik fußen. In diesem Kreise, der an Bedeutung dadurch gewinnt, daß der absolute Gehalt an Lipoid-P oft parallel gesenkt erscheint, ist die einfache Extraktion untunlich oder ganz zu verwerfen.

Die gleichzeitige Anwendung beider Isolierungen ist — zu Vergleichszwecken — in der Pathologie zu empfehlen.

Arbeitsweise und Leistungen der alten Methoden werden beschrieben; ihre Benutzung wird als ein (nunmehr genugsam charakterisiertes) Fehlgreifen bezeichnet. Die Handhabung und praktische Durchführung der neuen Methoden werden, nach Begründung ihrer inneren Vorteile, gewürdigt.

Die mikrochemische Lipoidbestimmung — die genannten neuen Techniken können auch für mittlere und makrochemische Maßstäbe geformt werden — ist auf die Leistung von Bestimmungsverfahren der Phosphorsäure angewiesen. Die mikroanalytischen

Möglichkeiten werden gesichtet, geprüft, erweitert und vergleichend charakterisiert. Die vorstehende Untersuchungsreihe faßt den lipoidgebundenen Phosphor des Blutserums als Teilerscheinung der sogen. P-Verteilung auf. Hierdurch wird seine Wiedergabe und seine zutreffende Kritik auf sichere Grundlagen gestellt.

Er wird andererseits als Glied des lipämischen Komplexes (unter allseitigen physiologischen, pathologischen Verhältnissen) behandelt. Seine Einordnung bedarf z. Zt. neben der analytischen Vorbedingungen gewisser schematischer Annahmen.

Beiden Angelegenheiten wurden mehrfach methodische und beschreibende Untersuchungen gewidmet. Obige Mitteilung ist demnach auch ein Teil der beschreibenden Beobachtungen des Verf. über das Lipämieproblem in der Pathologie.

Gleichzeitig möchte Verf. die Ergebnisse der Arbeit als wesentliche Bereicherung des derzeitigen Standes unserer Kenntnisse über das physiologische und pathologische Plasmalecithin des Menschen ansehen.

Die Untersuchung der aufgeworfenen Sonderfragen des Gebietes wird fortgeführt.

Zur Kenntnis des Blutzuckers.

Von

Gustaf Krok.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 6. Juli 1918.)

Mit 3 Fig. im Text.

Nach den Untersuchungen von Pavy, Lépine[1]) u. a. soll das Blut nach Hydrolyse mit Mineralsäure eine größere Glykämie als vorher aufweisen. Ein Teil des Zuckers kommt also in nicht direkt nachweisbarer Form vor, teils weil er mit anderen Stoffen im Blute verbunden ist, teils weil nicht direkt reduzierbare Polysaccharide vorliegen. Dieser „sucre virtuel" soll nach Lépine eine große Bedeutung besonders für die Diabeteslehre besitzen. Seine Gegenwart aber steht nicht über jedem Zweifel fest. Nachprüfungen sind demgemäß sehr wünschenswert und sind auch jetzt, nach dem Erscheinen der Mikromethode von Bang zur Blutzuckerbestimmung, viel einfacher auszuführen, als es früher der Fall. Wichtig ist in dieser Beziehung auch, daß Serienuntersuchungen leicht angestellt werden können. Ich habe deswegen nach dem Vorschlage Prof. Bangs Versuche hierüber in verschiedenen Richtungen angestellt, deren Ergebnisse im folgenden mitgeteilt werden sollen.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß bluthaltige Papierstückchen (100 bis 130 mg Blut) in die Bangsche Salzlösung (6,5 ccm) übergeführt wurden. Nach beendigter Extraktion wurde das Dekantat mit dem gleichen Volum $2\,^0/_0$iger

---

[1]) Siehe Bang, Blutzucker. Wiesbaden 1913, S. 40ff.

HCl-Lösung verdünnt und die Mischung im kochenden Wasserbade während 15 Minuten hydrolysiert. Nach der Hydrolyse und Neutralisation wurden 1,3 g KCl und die Kupferlösung zugesetzt und die Bestimmung weiter nach Bang ausgeführt. Daß der präformierte Zucker nicht durch diese Hydrolyse im Laufe einer Stunde zerstört wird, zeigten die einschlägigen Versuche: 0,200 ccm einer 0,1 %igen Zuckerlösung verwendet. Vor der Hydrolyse gefunden 0,200 mg und 0,205 mg Zucker. Nach Hydrolyse während 60 Minuten gefunden 0,207 mg und 0,215 mg. Nach der Hydrolyse aber während 90 Minuten gefunden: 0,175 mg und 0,165 mg Zucker. Mehr als 60 Minuten darf die Hydrolyse folglich nicht dauern. Diese Zeit genügt aber vollständig, um Stärke zu verzuckern, wie die Tabelle I zeigt.

Tabelle I.

Zeit der Hydrolyse	Berechnet	Gefunden	Berechnet	Gefunden
	mg	mg	mg	mg
5′	0,082	0,060	0,082	0,065
10′	0,082	0,063	0,082	0,060
15′	0,082	0,068	0,082	0,065
15′	0,082	0,075	0,164	0,130
15′	0,164	0,126	0,164	0,120
15′	0,164	0,120	0,164	—
20′	0,164	0,100	0,164	0,096
30′	0,164	0,116	0,164	0,095
60′	0,164	0,095	0,164	0,094
60′	0,164	0,100	0,164	—
90′	0,164	0,080	0,164	0,090

Wie ersichtlich, erzielt man den größten Wert nach einer Hydrolyse von 15 Minuten. Weiter geht hervor, daß man den Zucker nicht quantitativ findet. Doch sind die Verluste so gering, daß man nicht ein Vorkommen von Polysacchariden übersehen kann, wenn sie in nennenswerten Mengen im Blute sich finden.

Sämtliche Versuche sind an Kaninchen angestellt worden. Die Tiere bekamen teils Stärke (Amylum solubile in 100 g Wasser gelöst), teils Maltose mittels der Magensonde. Schließlich bekamen einige Tiere Adrenalin. Außer diesen experimentellen

Versuchen wurden einige Bestimmungen an Menschen und Hunden angestellt, um zu sehen, inwieweit man hier übereinstimmende Werte vor und nach der Hydrolyse findet. Diese Versuche entsprechen Nüchternwerten. Die Versuche mit Stärke haben folgende, in Tabelle II aufgeführte Ergebnisse geliefert.

Tabelle II.

a) 7 g Stärke in 100 ccm Wasser.

	Blutzucker	
	vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse
	%	%
Präformiert	0,062	0,066
1 Std. n. d. Einnahme v. Stärke	0,109	0,110
2 " " "	0,083 bis 0,083	0,094 bis 0,099
3 " " "	0,087 " 0,065	0,069 " 0,077
5 " " "	0,069	0,063
7 " " "	0,069 " 0,061	0,068 " 0,061
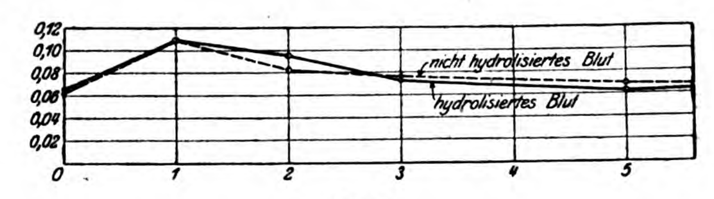


Fig. 1.

b) 8 g Stärke in 100 ccm Wasser.

	Blutzucker	
	vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse
	%	%
Präformiert	0,075	0,09
1 Std. n. d. Einn. v. Stärke	0,115 bis 0,12	0,11 bis 0,11
2 " " "	0,11 " 0,11	0,11 " 0,104 bis 0,105
4 " " "	0,09 " 0,083	0,088 " 0,095
5 " " "	0,081 " 0,076	0,074 " 0,086

Wie aus der Tabelle und der Kurventafel I ersichtlich, ist der Unterschied zwischen den Werten vor und nach der Hydro-

lyse so gering (und auch nicht konstant), daß ein Vorkommen von Dextrinen und überhaupt einfacheren Polysacchariden ausgeschlossen ist. Nur die Möglichkeit bleibt bestehen, daß solche gegenwärtig sein können, die in der betreffenden Salzlösung unlöslich sind. In Anbetracht der geringeren möglichen Quantität von Kohlenhydraten und im Vergleich zu der großen Menge Salzlösung scheint jedoch diese Eventualität recht unwahrscheinlich. Hierzu kommt, daß jedenfalls die Dextrine in der Salzlösung löslich sind.

Die Versuche mit Maltose haben genau dasselbe Ergebnis geliefert.

Tabelle III.

9 g Maltose in 100 ccm Wasser eingeführt.

	Blutzucker vor der Hydrolyse %	Blutzucker nach der Hydrolyse %
Präformiert	0,12	0,11 bis 0,11
1 Std. 15′ n. Einn. v. Maltose	0,23 bis 0,23	0,23 „ 0,23
2 „ 30′ „ „	0,22 „ 0,24	0,24 „ 0,22 bis 0,21
4 „ — „ „	0,15 „ 0,16	0,12 „ 0,13
5 „ 45′ „ „	0,105	0,10

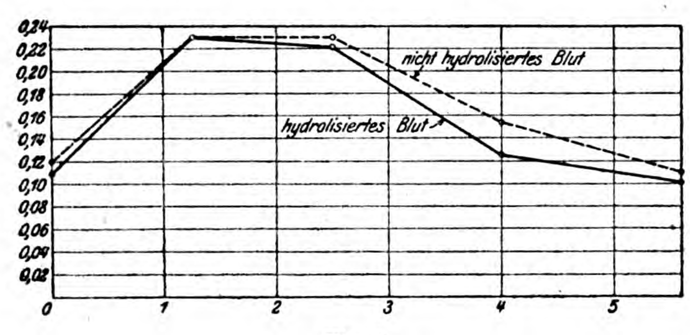


Fig. 2.

Weiter sind zwei Versuche mit Adrenalin ausgeführt worden. In dem ersten wurden 0,7 mg, im zweiten 1,0 mg Adrenalin subcutan eingespritzt. Tabelle IV zeigt die Verhältnisse des Blutzuckerspiegels.

Tabelle IV.

Nr. 1. Blutzucker

	vor der Hydrolyse %	nach der Hydrolyse %
Präformiert	0,145 bis 0,15	0,115 bis 0,125
1 Stunde nach der Injektion	0,32 „ 0,33	0,32 „ 0,34
3 „ — „ „ „	0,27 „ 0,28	0,27 „ 0,29
4 „ 30′ „ „ „	0,205 „ 0,205	0,205 „ 0,19
6 „ 30′ „ „ „	0,14	0,14 „ 0,13

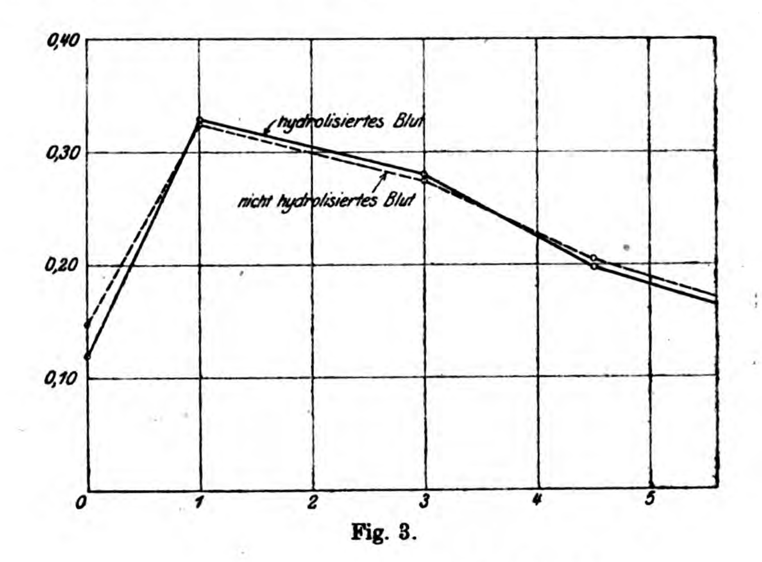


Fig. 3.

Nr. 2. Blutzucker

	vor der Hydrolyse %	nach der Hydrolyse %
Präformiert	0,08	0,08 bis 0,09
1 Std. nach der Injektion	0,27	0,26 „ 0,25
2 „ „ „ „	0,28 bis 0,24	0,37 „ 0,28
4 „ „ „ „	0,115 „ 0,10	0,105 „ 0,10
6 „ „ „ „	0,09	0,08

Schließlich wurde in einigen Versuchen an Menschen und Hunden der normale Blutzuckerwert (Nüchternwert) vor und nach der Hydrolyse festgestellt.

	Menschenblut	
	vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse
	%	%
Mensch Nr. 1	0,13 bis 0,12	0,12 bis 0,13
„ „ 2	0,11 „ 0,10	0,09 „ 0,10
„ „ 3	0,11 „ 0,11	0,11 „ 0,11
„ „ 4	0,095 „ 0,10	0,10 „ 0,10

	Hundeblut	
	vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse
	%	%
Hund Nr. 1	0,12 bis 0,13	0,12 bis 0,11
„ „ 2	0,115 „ 0,110	0,11 „ 0,115

Die Versuchsindividuen waren junge Studenten. Aus den sämtlichen Versuchen geht eindeutig hervor, daß der Blutzuckergehalt vor und nach der Hydrolyse unverändert bleibt. Hieraus kann man folgern, daß Polysaccharide oder gebundener Traubenzucker nicht in die Salzlösung übergehen, wenn das Blut damit extrahiert wird. Hiermit ist zwar die Frage betreffs des „sucre virtuel" nicht endgültig erledigt, doch erscheint die Gegenwart von solchen Verbindungen sehr unwahrscheinlich, da in solchem Falle der Zucker sehr fest an die Eiweißstoffe gebunden sein müßte. Auf der anderen Seite ist die Frage betreffend die sog. Restreduktion von diesen Untersuchungen kaum berührt worden. Es ist wahrscheinlich, daß diese Restreduktion von solchen Körpern bedingt ist, die überhaupt nicht mit der hier in Frage kommenden Reduktionsflüssigkeit reagieren.

Beiträge zur Theorie der Gerinnung.

Von

Alfred Perutz und Max Rosemann.

(Aus dem k. und k. Res.-Spitale in Nyitra, Ungarn.)

(Eingegangen am 17. Juli 1918.)

Gelegentlich der Ausarbeitung einer Methode über die quantitative Bestimmung des Fibrinogens im Blute[1]) fiel es uns auf, daß die Fibrinbildung noch bei sehr starken Verdünnungen und kleinen Mengen von Plasma auftritt. Wir fanden nämlich, daß bei normalen Blutplasmen eine deutliche Fibrinbildung noch bei Verdünnungen von 1 : 2000 bei 4 ccm Lösung sichtbar war.

Diese Reaktion entspricht quantitativ einer Menge von ca. $^1/_{9000}$ mg Fibrinogen in 4 ccm Lösung. Wenn man sich weiter noch vor Augen hält, daß die Fibrinmenge kleiner ist als die Fibrinogenmenge, aus der sie hervorgegangen ist [Hammarsten[2])], so ist es merkwürdig, daß bei einer Verdünnung von 1 : 2000 so starke Gerinnsel zu beobachten sind.

Nach der in der früher erwähnten Arbeit beschriebenen Technik, wurde das Plasma eines an Gonorrhoe leidenden Kranken, der aber sonst gesund war, untersucht. Wir stellten uns eine Plasmaverdünnung von 1 : 100 in 0,2 $^0/_0$iger Natrium-Citricumlösung her und fügten zu in beiläufig arithmetrischer Progression fallenden Konzentrationen je 0,2 ccm frischen Serums desselben Patienten hinzu.

---

[1]) Perutz und Rosemann, diese Zeitschr. 1918.

[2]) Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 1910.

Tabelle I.

Plasma 1 : 1000 in ccm .	3	2,5	2,0	1,5	1,3	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5
NaCitr	1	1,5	2	1,5	1,3	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5
Serum	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Resultat . . .	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—

Als positiv galten jene Resultate, bei denen beim leichten Aufschütteln das Fibrin in Form von Gerinnseln auftrat.

Es sei noch bemerkt, daß wir deshalb mit 0,2 ccm frischen Serums arbeiteten, weil wir bei kleinen Serummengen nicht die konstanten und, wie gewünscht, empfindlichen Resultate erhielten.

Im Laufe von weiteren Arbeiten ergab sich nunmehr die Notwendigkeit, zu untersuchen, welche Serummengen noch imstande sind, eine Gerinnung hervorzurufen. Wir stellten uns folgende Verdünnungen von Serum in 0,2 $^0/_0$iger Natrium-Citricumlösung her und gaben zu 2,5 ccm dieser einzelnen Serumverdünnungen je 0,2 ccm Plasma hinzu, also Plasma überall im Verhältnis 2 : 25.

Serum: 1 : 50 1 : 100 1 : 200 1 : 400
1 : 800 1 : 1600 1 : 3200

Tabelle II.

Serum in NaCitr .	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200
	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Citratplasma . . .	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Resultat . .	+++	+	+	±	—	—	—

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, traten Gerinnsel schon bei einer Verdünnung von 1 : 400 Serum fast gar nicht mehr auf, also bei einer Serummenge von 0,00625 ccm. Die im Vergleich zu Versuch 1, Tabelle I verhältnismäßig hohe Reaktionsgrenze sprach jedenfalls gegen die Fermentnatur des Thrombins, da ein Ferment noch in diesen Verdünnungen seine Wirkungen entfalten müßte.

Dagegen ließe sich noch immer geltend machen, daß die Menge des Thrombins im Serum eine so kleine ist, daß diese Verdünnungen an der Reaktionsgrenze liegen.

Um nun den Einfluß des Serums resp. des Thrombins auf die gebildete Thrombinmenge näher kennen zu lernen, machten

wir uns Plasmaverdünnungen in 0,2 %iger Natrium-Citricumlösung von 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400, fügten dazu verschiedene Mengen von Serum und beobachteten die Reaktion in 12 stündigen Intervallen.

Die Resultate sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle III.

Serum in NaCitr. 5 ccm . . .	Verdünnungen 1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512	1 : 1024	1 : 2048		
Plasma i. NaCitr.	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50		
Resultat: 1. Tag	+++	–	–	–	–	–	–	–	vorm. 10^h	1. ½ Tag
	+++	+++	++	–	–	–	–	–	abds. 10^h	2. ½ "
" 2. "	+++	+++	+++	+++	–	–	–	–	vorm. 10^h	3. ½ "
	+++	+++	+++	+++	+	–	–	–	abds. 10^h	4. ½ "
" 3. "	+++	+++	+++	+++	++	+	–	–	vorm. 10^h	5. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	–	–	abds. 10^h	6. ½ "
" 4. "	+++	+++	+++	+++	++	+	–	–	vorm. 10^h	7. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	–	–	abds. 10^h	8. ½ "
" 5. "	+++	+++	+++	+++	++	+	–	–	vorm. 10^h	9. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	10. ½ "
" 6. "	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	11. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	12. ½ "
" 7. "	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	13. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	14. ½ "
" 8. "	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	15. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	16. ½ "
" 9. "	+++	+	++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	17. ½ "
	+++	+	++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	18. ½ "
" 10. "	+++	+	++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	19. ½ "
	+++	+	++	+++	++	+	±	–	abds. 10^h	20. ½ "
" 11. "	+++	+	++	+++	++	+	±	–	vorm. 10^h	21. ½ "
	+++	+	++	+++	++	+	±	–	abds 10^h	22. ½ "
Plasma in NaCitr.	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100		
Resultat: 1. Tag	++	–	–	–	–	–	–	–	vorm. 10^h	1. ½ Tag
	+++	++	++	–	–	–	–	–	abds. 10^h	2. ½ "
" 2. "	+++	+++	+++	++	–	–	–	–	vorm. 10^h	3. ½ "
	+++	+++	+++	+++	+	–	–	–	abds. 10^h	4. ½ "
" 3. "	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	vorm. 10^h	5. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	±–	–	–	abds. 10^h	6. ½ "
" 4. "	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	vorm. 10^h	7. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	abds. 10^h	8. ½ "
" 5. "	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	vorm. 10^h	9. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	abds. 10^h	10. ½ "
" 6. "	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	vorm. 10^h	11. ½ "
	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	abds. 10^h	12. ½ "

Tabelle III (Fortsetzung).

Plasma in NaCitr.	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	
Resultat: 7. Tag	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	vorm. 10^h 13. $^1/_2$ Tag
	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	abds. 10^h 14. $^1/_2$ „
„ 8. „	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	vorm. 10^h 15. $^1/_2$ „
	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	abds. 10^h 16. $^1/_2$ „
„ 9. „	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	vorm. 10^h 17. $^1/_2$ „
	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	abds. 10^h 18. $^1/_2$ „
„ 10. „	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	vorm. 10^h 19. $^1/_2$ „
	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	abds. 10^h 20. $^1/_2$ „
Plasma in NaCitr.	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	1 : 200	
Resultat: 1. Tag	—	—	—	—	—	—	—	—	vorm. 10^h 1. $^1/_2$ Tag
	+++	++	—	—	—	—	—	—	abds. 10^h 2. $^1/_2$ „
„ 2. „	+++	+++	++	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 3. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	—	—	—	—	abds. 10^h 4. $^1/_2$ „
„ 3. „	+++	+++	++	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 5. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 6. $^1/_2$ „
„ 4. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 7. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 8. $^1/_2$ „
„ 5. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 9. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 10. $^1/_2$ „
„ 6. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 11. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 12. $^1/_2$ „
„ 7. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 13. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 14. $^1/_2$ „
„ 8. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 15. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 16. $^1/_2$ „
„ 9. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 17. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 18. $^1/_2$ „
„ 10. „	+++	+++	++	+	±	—	—	—	vorm. 10^h 19. $^1/_2$ „
	+++	+++	++	+	±	—	—	—	abds. 10^h 20. $^1/_2$ „
Plasma in NaCitr.	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 400	
Resultat: 1. Tag	—	—	—	—	—	—	—	—	vorm. 10^h 1. $^1/_2$ Tag
	++	+	—	—	—	—	—	—	abds. 10^h 2. $^1/_2$ „
„ 2. „	+++	++	±	—	—	—	—	—	vorm. 10^h 3. $^1/_2$ „
	+++	++	+	±	—	—	—	—	abds. 10^h 4. $^1/_2$ „
„ 3. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 5. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 6. $^1/_2$ „
„ 4. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 7. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 8. $^1/_2$ „
„ 5. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 9. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 10. $^1/_2$ „
„ 6. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 11. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10t 12. $^1/_2$ „
„ 7. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 13. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 14. $^1/_2$ „
„ 8. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 15. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 16. $^1/_2$ „
„ 9. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 17. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 18. $^1/_2$ „
„ 10. „	+++	++	+	+	—	—	—	—	vorm. 10^h 19. $^1/_2$ „
	+++	++	+	+	—	—	—	—	abds. 10^h 20. $^1/_2$ „

Wir fanden, daß vom 4. Tage an, an dem die Reaktion stationär wird, bei Plasmaverdünnung 1 : 50 bis Serumverdünnug 1 : 512 resp. 1024 deutliche Fibrinbildung eintritt, daß dagegen bei Plasmaverdünnung 1 : 100 die Grenze bei 1 : 512, bei 1 : 200 die Grenze bei 1 : 256 und bei 1 : 400 die Grenze bei 1 : 128 Serum war.

Vom Standpunkte der Fermenttheorie ist es verwunderlich, daß die Fibrinbildung bei relativ so starken Plasmakonzentrationen nicht nur von der Menge des Serums, sondern auch von der Menge des Plasmas abhängig ist, denn wenn die Grenze der Fermentwirkung bei 1 : 128 liegt, so darf die Verdünnung Serum 1 : 512 auch bei stärkeren Plasmakonzentrationen 1 : 50, 1 : 100 keine Fibrinbildung ergeben und umgekehrt, da nur die Zeit hier als Variable dienen würde, was aber hier nicht in Betracht kommt, da wir die Beobachtung der Reaktion weit über die Reaktionszeit hinaus ausgedehnt haben.

Weiter fiel es uns auf, daß die Menge des gebildeten Fibrins den Serumverdünnungen proportional war und auch nach längerer Zeit blieb, was mit der Fermentnatur des Thrombins ebenfalls nicht in Einklang zu bringen ist, da in diesem Falle dann die Reaktion monomolekular wäre, folglich die entstehende Menge des Fibrins immer nur der Fibrinogenmenge proportional sein müßte.

Voraussetzung dafür ist, daß, wie es sich aus der Schützschen Regel ($u = K \cdot \sqrt{p \cdot t}$) ergibt, die Zeit auf ∞ ausgedehnt, d. h. die Beobachtung weit über die Reaktionszeit hinaus ausgedehnt werden würde. Denn in diesem Falle können wir p(Fibrinferment) $= 0$ setzen.

Alle diese Erscheinungen sind alsbald erklärlich, wenn wir mit Nolf[1]) annehmen, daß die Fibrinbildung kein fermentativer Prozeß, sondern eine kolloidchemische Fällung zweier Kolloidkörper: Thrombin und Fibrinogen, sei; dabei ist die Menge des entstehenden Fibrins proportional der Menge beider Komponenten, so daß innerhalb gewisser Grenzen die Fibrinbildung dem Produkte Fibrinogen-Thrombin direkt proportional wäre.

Bei kleinen Thrombinmengen müssen die Fibrinogenmengen hinreichend groß sein, bei großen Thrombinmengen hingegen genügt eine kleine Fibrinogenmenge.

---

[1]) Nolf, ref. in Malys Jahrb. d. Tierchem. **1905, 1906, 1907, 1908.**

Dadurch ist es erklärlich, daß bei Verdünnungen von Serum und Plasma, die jede für sich noch weit innerhalb der Reaktionsgrenze liegen, die Resultate negativ ausfielen, wie es aus Tabelle II und III ersichtlich ist, denn nach der Nolfschen Theorie ist das Produkt aus Plasma und Serum $(x \cdot y)$ in diesem Falle zu klein $[x \cdot y$*$) = F.$ (Fibrin)].

Wir verwendeten als Lösungsmittel eine 0,2 % ige Natrium-Citricumlösung, und nicht eine physiologische Kochsalzlösung, da wir beobachten konnten, daß bei Verwendung von Kochsalzlösung als Lösungsmittel Fibrinbildung in einem Citratplasma auch ohne Serum vor sich geht.

Dies tritt wahrscheinlich deswegen ein, weil bei Hinzufügen von Kochsalz die Reaktion reversibel verläuft nach der Formel:

Calcium-Citrat + Natrium-Chlorid $\rightleftarrows$ Natrium-Citrat + Calcium-Chlorid.

Es entsteht eine kleine Menge von löslichem Calciumchlorid, die genügt, um aus dem Plasma selbst Thrombin zu bilden.

Zwischen Tabelle II und III besteht scheinbar ein Widerspruch, der bald erklärlich wird, wenn man bedenkt, daß wir bei Versuch 2 nur 2,5 ccm Serum, während wir bei Versuch 3 4 ccm Serum anwendeten.

Zusammenfassung.

1. Die Fibrinmenge, die aus der Mischung von Serum und Plasma hervorgeht, steht in einem proportionalen Verhältnis zu den angewandten Mengen beider Komponenten. Dieses Gesetz gilt allerdings nur bei stärkeren Verdünnungen.

2. Verwendet man verschiedene Serummengen bei gleicher Menge von Plasma, so nimmt die Fibrinmenge entsprechend der Serummenge ab.

3. Verwendet man verschiedene Plasmamengen bei gleicher Menge von Serum, so nimmt die sich daraus bildende Fibrinmenge entsprechend der Plasmamenge ab.

4. Verwendet man stärkere Verdünnung von Plasma und Serum, die sich der Reaktionsgrenze nähern, so muß, damit eine Reaktion zustande komme, die Serumkonzentration größer sein als die Plasmakonzentration.

---

*) Wobei x = Fibrinogen und y = Thrombin ist.

Phytochemische Reduktionen. XV.

Die Überführung von Acetaldol in optisch aktives β-Butylenglykol durch Hefe

nebst Anhang:

Darstellung, Reaktionen und krystallisierte Abkömmlinge des Aldols.

Von

Carl Neuberg und Elisabeth Kerb, geb. Etzdorf.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie zu Berlin-Dahlem.)

Die wunderbar erscheinende Umwandlung selbst in der Natur nicht vorkommender Aldehyde durch Hefe findet wohl ihre Erklärung darin, daß dieser Vorgang letzten Endes ein allgemeiner biologischer Prozeß ist. Denn was zuerst von C. Neuberg und J. Kerb[1]) schon vor Jahren in hohem Grade wahrscheinlich gemacht war und was daraufhin vielen Betrachtungen über die Entstehung des Gärungsäthylalkohols als Grundlage gedient hatte, ist jüngst von C. Neuberg und E. Reinfurth[2]) durch die Festlegung der Aldehydstufe bei der alkoholischen Gärung bewiesen, die Tatsache, daß bei der Alkoholbildung auf dem Wege der Gärung die Aldehydstufe durchlaufen wird. Ein gleiches müssen wir heute für die Entstehung auch der mannigfachen höheren Alkohole bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren annehmen, die nach den Darlegungen von O. Neubauer und K. Fromherz[3]) über das Glied der α-Ketosäuren führt. Diese unterliegen, wie C. Neuberg und Mitarbeiter[4]) für zahlreiche Vertreter dieser Carbonylsäuren gezeigt haben, sämtlich der Spaltung durch die Carboxylase, wobei sie primär in Kohlen-

---

[1]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. **53**, 406, 1913 und Ber. **46**, 2225, 1913.

[2]) C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 365, 1918.

[3]) O. Neubauer und K. Fromherz, Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 326, 1911.

[4]) C. Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. **1911** bis **1918**.

dioxyd und den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Aldehyd zerfallen, der als solcher isoliert, aber auch sekundär zu dem entsprechenden Alkohol hydriert werden kann. Demnach stellt die phytochemische Reduktion der Aldehyde durch die Hefe die letzte Phase der Umwandlungsvorgänge bei den verschiedenen alkoholischen Gärungen dar.

Einen weiteren wichtigen Anhalt für den biologischen Charakter der Reaktion und zugleich einen Einblick in den Verlauf konnte ihr Studium an racemischen Vertretern gewähren für den Fall, daß sich die Reduktion hier asymmetrisch vollzog, also von dem inaktiven Aldehyd zu dem aktiven Alkohol führte. Der Eintritt dieses Vorganges ließ sich beinahe voraussehen auf Grund der von C. Neuberg und W. H. Peterson[1]) gemachten Erfahrungen bei der Valeraldehyd- und Amylalkoholgärung der d,l-Methyl-äthyl-brenztraubensäure. Diese racemische α-Ketosäure gibt nämlich zur Entstehung von optisch aktivem Valeraldehyd und ebensolchem Amylalkohol Anlaß. Streng genommen handelt es sich jedoch dabei um eine asymmetrische Spaltung des Ausgangsmaterials durch die Carboxylase, die der sekundären Reduktion des Aldehyds vorausgeht. Unmittelbare Versuche mit geeigneten racemischen Aldehyden versprachen endgültige Klärung. C. Neuberg und M. Ringer[2]) haben jüngst dargetan, daß der d, l-Methyl-äthyl-acet-aldehyd durch Hefe asymmetrische Reduktion zum d-Amylalkohol erfährt. Wir wählten das Acetaldol, den d, l-β-Oxybuttersäurealdehyd.

Die im folgenden eingehend beschriebenen Ergebnisse lehren, daß das Aldol recht glatt zum zugehörigen Alkohol, dem β-Butylenglykol (Butandiol-1,3), hydriert wird und zwar asymmetrisch:

$$CH_3 \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CH_2 \cdot CHO \rightarrow CH_3 \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CH_2 \cdot CH_2OH.$$

Das Glykol war stark dextrogyr; die Drehung erreichte (im Höchstfalle) $+10,9^0$ für die 1-dcm lange Schicht. Die beste Ausbeute, die wir erzielten, belief sich auf 63,5 $^0/_0$ an Reduktionsprodukt. Daß auch hier die Reaktion — so wenig wie bei den anderen phytochemischen Aldehydhydrierungen — sicher nicht nach dem Schema der Cannizzaroschen Gleichung verlaufen

[1]) C. Neuberg und W. H. Peterson, diese Zeitschr. 67, 32, 1914.

[2]) C. Neuberg und M. Ringer, diese Zeitschr. 90, 388, 1918.

ist, zeigt der Ertrag. Er ist aber auch größer als der biochemischen Umwandlung nur einer Komponente des racemischen Aldehyds entsprechen würde, d. h. das entstandene β-Butylenglykol kann nicht zu 100% aus rechtsdrehender Form bestehen, sondern muß auch Racemkörper einschließen. Man wird sich vorstellen dürfen, daß die phytochemische Reduktion beide Formen betrifft, aber die rechtsdrehende ganz wesentlich bevorzugt.

Zugleich kann man aus dem Eintritt der Reaktion mit dem Aldol sowie aus früheren Ermittelungen folgern, daß sie auch bei Oxyaldehyden recht verschiedenen Baues verwirklicht wird. Sie ist bisher schon beim einfachsten Oxyaldehyd, dem Glykolaldehyd[1]), der dabei in Äthylenglykol übergeht, festgestellt, sowie auch beim Glycerinaldehyd beobachtet worden, der jedoch wegen seiner Zugehörigkeit zur Zuckerreihe[2]) einen Sonderplatz einnimmt.

Nicht unerwähnt möge schließlich der Hinweis bleiben, daß der β-Oxybuttersäurealdehyd von der Pflanze zu dem aktiven Alkohol, dem β-Butylenglykol, reduziert wird, während er im tierischen Organismus[3]) wahrscheinlich über aktive β-Oxybuttersäure zu Acetessigsäure oxydiert wird, ganz entsprechend dem Generalcharakter der Umwandlungsvorgänge in beiden Naturreichen.

Das Studium dieser Aldolumwandlung hat uns zugleich eine neue Bestätigung einer jüngst gemachten Erfahrung über den Verlauf der phytochemischen Reduktionen gebracht, die im folgenden besteht:

Die Hydrierung der Aldehyde zu den entsprechenden Alkoholen ist zumeist mit gärendem Hefematerial ausgeführt worden. Ob dabei die Alkoholgärung mit lebender Hefe oder zellfrei[4]) vor sich geht, ist gleichgültig, weil dabei die zugesetzten Aldehyde in beiden Fällen reduziert werden. Erweiternd[5]) konnten wir feststellen, daß die gleichzeitige besondere

---

[1]) C. Neuberg und E. Schwenk, diese Zeitschr. 71, 114, 1915.

[2]) M. Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 63, 1914.

[3]) E. Friedmann, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 202, 1918.

[4]) C. Neuberg und H. Steenbock, diese Zeitschr. 52, 494, 1913 und 59, 188, 1914. — C. Neuberg und W. H. Peterson l. c.

[5]) Vergl. C. Neuberg und H. Steenbock, l. c. — Ferner: C. Neuberg und M. Ringer, diese Zeitschr. 91, 131, 1918.

Einleitung einer alkoholischen Zuckerspaltung unnötig ist; denn die Umwandlung des Aldols in rechtsdrehendes β-Butylenglykol erfolgt auch, wenn einfach die wäßrige Aldollösung allein mit Hefe einige Zeit in Berührung bleibt, und das gleiche haben wir noch an einem weiteren Beispiele, bei der Reduktion des Citrals (s. S. 114), feststellen können.

Freilich muß man, nachdem C. Neuberg und A. Lewite[1]) eine Anteilnahme des zerfallenden Zuckers am Zustandekommen der phytochemischen Reduktion wenigstens in einem Falle nachgewiesen haben, die Frage aufwerfen, ob nicht die Kohlenhydrate des Hefenzellinhaltes beim Eintritte der Selbstgärung entsprechend wirken. Durch Versuche mit sogen. „glykogenfreier“ Hefe hoffen wir, diesen nicht unwesentlichen Punkt später klären zu können.

Die in jedem Falle gemachte Erfahrung, daß der einfache Vorgang der phytochemischen Aldehydhydrierung asymmetrisch verläuft, sobald sie eine Racemform betrifft, gibt Veranlassung, zu einer jüngst von K. Heß und A. Eichel[2]) veröffentlichten Ausführung Stellung zu nehmen. Die genannten Autoren wollen auf Grund des Umstandes, daß sich unter den Alkaloiden des Granatapfelbaumes vorwiegend optisch inaktive Basen finden, den Vegetabilien eine besondere Kraft zur Racemisierung zuerkennen; sie wollen darin und in der Fähigkeit des Tierkörpers in asymmetrischem Sinne auf- und abzubauen, „eines der bedeutsamen physiologischen Unterscheidungsmerkmale zwischen Tier- und Pflanzenorganismus“ erblicken. Uns scheint es nicht angängig, eine derartige Trennung aufrechtzuerhalten. Denn der Tierkörper bringt auch Racemverbindungen hervor, wie die d, l-Arabinose bei der Pentosurie[3]) und den d, l-ac-α-Tetrahydronaphthalinharnstoff bei der Verfütterung von Tetralin[4]). Er zerlegt auch im Stoffwechsel keineswegs immer eingeführte Racemate; so wandert d, l-Weinsäure ohne Zerfall in die Antipoden[5]) durch den Organismus des Hundes. Andererseits lehren

---

[1]) C. Neuberg und A. Lewite, diese Zeitschr. 91, 257, 1918.

[2]) K. Heß und A. Eichel, Ber. 50, 1391, 1917,

[3]) C. Neuberg, Ber. 33, 2243, 1900.

[4]) G. Schröter und K. Thomas, Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 262, 1918.

[5]) C. Neuberg und S. Saneyoshi, diese Zeitschr. 36, 32, 1911.

gerade die zahlreichen asymmetrischen Spaltungen, welche Racemgebilde der Zucker- und Eiweißreihe durch pflanzliche Enzyme erfahren, daß die Vegetabilien im allgemeinen eine Tätigkeit entfalten, die gerade auf das Gegenteil einer Racemisierung, auf optische Aktivierung, gerichtet ist. Diesen Abbauvorgängen reiht sich nun die synthetische Leistung der asymmetrischen phytochemischen Reduktion an. —

Die Ausführung der Versuche mit dem Acetaldol selbst gestaltete sich folgendermaßen:

Versuch 1.

In 2 Zehnliterflaschen wurden je 250 g Rohrzucker in 2500 ccm Wasser von 40° gelöst und 250 g obergärige Hefe, Rasse M des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin, eingetragen. Nachdem die Flüssigkeit in lebhafte Gärung geraten war, ließen wir 15 g frisch destilliertes Aldol in jedes Gefäß einfließen. Es waren hierbei besondere Vorsichtsmaßregeln[1]) nicht nötig, da die Gärung nur vorübergehend verlangsamt wurde, ihre vorherige Lebhaftigkeit aber bald wieder erlangte. Bedingung ist, daß das Aldol rein ist und nicht mehr als Spuren von Crotonaldehyd enthält, der die Gärung empfindlich hemmt oder sogar völlig unterbindet. Nach 3 Tagen kräftiger Gärung bei Zimmertemperatur (17 bis 20°), während der die Flaschen häufig geschüttelt wurden, gab eine abfiltrierte Probe keine Reaktion mehr mit Fehlingscher Lösung. Nunmehr wurde die Hefe abfiltriert und das Filtrat im Apparate von Faust-Heim unter Zusatz von etwas Calciumcarbonat zur Neutralisation schwach sauer reagierender Substanzen eingeengt. Der dickliche braune Rückstand wurde mit Alkohol verrührt, in einen Rundkolben gespült und nach Hinzufügen von ca. 1 l Alkohol am Rückflußkühler auf dem Wasserbade ausgekocht. Nach mehrstündigem Stehen gossen wir von den ausgefallenen zähen Klumpen ab und kochten diese noch ein zweites Mal mit einem Viertel Liter Alkohol aus.

---

[1]) Von dem Einstellen der Gefäße in den Brutschrank ist abzusehen, da schon bei 37° in den Gemischen teilweise eine schädliche Umwandlung des Aldols in Crotonaldehyd

$$CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CHO \xrightarrow[- H_2O]{} CH_3 \cdot CH : CH \cdot CHO$$

erfolgt, kenntlich am Geruch.

Von den vereinigten Alkoholauszügen wurde der Alkohol abdestilliert und der Rückstand wieder mit absolutem Alkohol aufgenommen. Es schied sich abermals eine Schmiere aus, deren Entfernung durch weiteren Zusatz von Alkohol vervollständigt wurde. Nach gutem Absetzen der dicklichen Ausscheidungen wurde filtriert und der Alkohol abdestilliert; aus dem Rückstand wurde durch Erwärmen im Vakuum auf 50° noch vorhandenes Wasser möglichst entfernt. Wir nahmen den Rückstand alsdann mit absolutem Alkohol auf und setzten nunmehr ein gleiches Volumen über Natrium getrockneten Äthers hinzu, der von neuem Ausfällung klumpiger Verunreinigungen bewirkte. Nach deren Abfiltrierung wurden Alkohol und Äther abgetrieben und der Rest des Lösungsmittels durch Erwärmen beseitigt, der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst und mit geglühtem Kaliumcarbonat getrocknet. Die nach Vertreibung des Alkohols jetzt zurückbleibende sirupöse Flüssigkeit wurde dann im Vakuum destilliert. Bei 18 mm ging gegen 100° ein geringer Vorlauf über, alsdann stieg das Thermometer rasch bis 115°, und von 115 bis 120° destillierten 17,8 g einer dickflüssigen, gelblichen, dumpf riechenden und schwach alkalisch reagierenden Flüssigkeit über. Diese war leicht löslich in Wasser und Alkohol, schwer löslich in Äther; sie wurde nochmals bei gewöhnlichem Druck destilliert, und wir erhielten bei 206,5 bis 208° eine dicke, nunmehr fast farb- und geruchlose Flüssigkeit, die sich als β-Butylenglykol $CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$ erwies. Um ein reineres Produkt zu erhalten, wurde sie noch einmal im Vakuum rektifiziert. Wir fanden bei 19 mm den Siedepunkt 113 bis 114°. Das Butylenglykol zeigte den charakteristischen brennend-süßlichen Geschmack. Eine Prüfung seines polarimetrischen Verhaltens ergab eine Rechtsdrehung von $+3{,}9°$ in 1 dcm langer Schicht. Die Ausbeute an erstem Destillat betrug, wie erwähnt, 17,8 g; das sind 58% der Theorie.

Analyse.

0,1590 g Subst. gaben 0,3070 g CO_2 und 0,1613 g H_2O.

$C_4H_{10}O_2$ Mol.-Gew. 90.

Berechnet: C = 53,33%; H = 11,11%;

gefunden: C = 52,66%; H = 11,27%.

Der etwas zu geringe Wert für Kohlenstoff ist auf die

Beimengung von Spuren einer basischen Verbindung zurückzuführen. In den späteren Versuchen ist das Auftreten dieser Verunreinigung vermieden worden. —

Es wurden noch 4 Versuche zur Kontrolle des oben beschriebenen Befundes sowohl mit verschiedenen Sorten Hefe als auch unter Variierung der zugesetzten Mengen Aldol angestellt.

Versuch 2.

3 Zehnliterflaschen wurden mit 250 g Rohrzucker, 2500 g Wasser und 250 g obergäriger Hefe Rasse XII beschickt; zu jeder Flasche setzten wir allmählich 25 g Aldol. Die Gärung war während zweier Tage außerordentlich lebhaft, ließ am dritten Tage jedoch deutlich nach, obgleich eine Probe mit Fehlingscher Lösung zeigte, daß noch nicht aller Zucker umgesetzt war. So wurden denn in jede Flasche noch 100 g Hefe gegeben, und nach 2 weiteren Tagen wurde, da die Reaktion mit Fehlingscher Lösung negativ ausfiel, von der Hefe abfiltriert und weiter verarbeitet wie bei Versuch 1, nur erfolgte die schließliche Trocknung der alkoholisch-ätherischen Lösung über geglühtem Glaubersalz statt über Kaliumcarbonat, wodurch das Übergehen eines alkalisch reagierenden Produktes (durch die Pottasche freigemachte Amine?) verhindert wurde. Es resultierte wieder eine nach mehrmaliger Rektifikation farblose dickliche Flüssigkeit Kp_{14} 112^{0}, die sich als β-Butylenglykol identifizieren ließ[1]). Die Ausbeute gestaltete sich hier noch etwas besser. Wir erhielten 46,7 g, das sind 61 % der Theorie, an recht reinem Rohprodukt. Das Butylenglykol war dieses Mal etwas stärker rechtsdrehend und zwar $= + 8,95^{0}$ in 2 dcm langer Schicht.

Analyse.

0,1603 g Subst. gaben 0,3121 g CO_2 und 0,1594 g H_2O

$C_4H_{10}O_2$. Berechnet: C = 53,33 %; H = 11,11 %;

gefunden: C = 53,10 %; H = 11,05 %.

Bei dieser Art der Isolierung stimmte auch die Analyse scharf.

---

[1]) Der Siedepunkt unter Atmosphärendruck wurde ein wenig höher gefunden als für β-Butylenglykol bisher verzeichnet ist. J. H. Halpern (M. 22, 59, 1901) gibt 204 bis 204,5° an, A. Kekulé (Ann. 162, 310, 1872) führt 204° und N. Demjanow (Ber. 28, 22, 1895) 204 bis 206° an. Vielleicht spielt der Gehalt an aktiver Form dabei mit.

Versuch 3.

Zu diesem Versuch wurden in zwei Zehnliterflaschen 250 g Rohrzucker in 2,5 l Wasser gelöst und mit 250 g untergäriger Hefe K in lebhafte Gärung versetzt. Es wurde zu jeder Flasche 50 g Aldol gegeben. Die Gärung verlief weniger kräftig als bei den ersten Versuchen, es mußte bis zur Beendigung derselben noch zweimal je 100 g Hefe und einmal 200 g nebst etwas Wasser hinzugesetzt werden, ehe der Zucker verschwunden war. Offenbar bedingte die Wahl der anderen Heferasse sowie die höhere Aldolkonzentration[1]) diese Abweichung. Nach 7tägigem Stehen bei etwa 20° wurde das Gärgut verarbeitet. Es waren 65 g β-Butylenglykol (Rohprodukt) vom Siedepunkt 110 bis 112° bei 13 bis 14 mm entstanden, d. h. 63,5% der theoretischen Menge. Die Drehung des nochmals rektifizierten Produktes betrug diesmal + 10,9° in einem 10 cm langen Rohr.

Versuch 4.

Eine Lösung von 250 g Rohrzucker in 2500 g Wasser mit 250 g obergäriger Hefe Rasse M zur Gärung entfacht und mit 80 g Aldol versetzt, vergor erheblich schwerer als bei den vorangehenden Versuchen. Entweder mag die Dosis des zugefügten Aldols doch etwas zu reichlich gewesen sein[2]), oder infolge eines damals leider aufgetretenen Mangels an frischer Hefe erfolgte die Zugabe neuer Hefemengen nicht mehr rechtzeitig genug zur Wiederbelebung der Gärung. Es konnte nur einmal, und zwar nach 7 Tagen, 100 g frische Hefe hinzugesetzt werden. Nach 17 Tagen wurde verarbeitet. 80 g Aldol lieferten hier nur 28 g, gleich 34% der möglichen Menge, an β-Butylenglykol; es zeigte eine Drehung von + 5,1° im 1-dcm-Rohr.

Versuch 5.

Dieser Versuch wurde ohne Zuckerzusatz ausgeführt.

Einer Suspension von 750 g obergäriger Hefe M in 7500 ccm Wasser, die sich in einer Zehnliterflasche befand, wurde 100 g Aldol zugesetzt. Unter häufigem Umschütteln und zeitweiliger

[1]) zwei Faktoren, die jedoch keinen ungünstigen Einfluß auf die Ausbeute hatten.

[2]) Bei dem Aufkochen des Gärgutes trat intensiver Geruch nach Crotonaldehyd auf, was auf eine Zersetzung noch unangegriffenen Aldols deutete.

Zugabe von insgesamt 800 g frischer Hefe blieb das Gemisch bei Zimmertemperatur (16 bis 21°) 2 Monate stehen. Einen Anhaltspunkt über das Schicksal des Aldols während dieser Zeit gewährte die Nitroprussidnatriumprobe, die nach unseren Erfahrungen auch mit dem Aldol eintritt (s. S. 108).

Es wurde von Zeit zu Zeit eine kleine Probe abfiltriert und mit Nitroprussidnatrium und Piperidin auf Aldol geprüft. Während in der ersten Zeit eine äußerst intensive Blaufärbung auf die Anwesenheit erheblicher Mengen unangegriffenen Aldehyds schließen ließ, schwächte sich die Reaktion allmählich ab, bis nach Verlauf von 2 Monaten der fast negative Ausfall der Probe den Ansatz als verarbeitungsreif erwies. Die Isolierung vollzog sich in ganz gleicher Weise wie bei den Gärungsversuchen mit Zuckerzugabe. 100 g Aldol lieferten 52 g Butylenglykol. Gleich der Ausbeute war auch die optische Aktivität von der sonst beobachteten Größenordnung; die Rechtsdrehung betrug + 6,6° im 1 dcm-Rohr.

Analyse.

0,1357 g Subst. gaben 0,2646 g CO_2 u. 0,1340 g H_2O

$C_4H_{10}O_2$. Berechnet: C = 53,33%; H = 11,11%;

gefunden: C = 53,18%; H = 10,97%.

Obgleich nach Eigenschaften und Analysen das Vorliegen von β-Butylenglykol in keinem Falle zu bezweifeln war, haben wir noch die Umwandlung in eine krystallisierte Verbindung bewirkt, und zwar mit Hilfe des von C. Neuberg und E. Hirschberg[1]) zur Charakterisierung von Alkoholen empfohlenen α-Naphthylisocyanats.

β-Butylenglykol-di-α-naphthylurethan.

CH_3
$\dot{C}H \cdot COO \cdot NH \cdot C_{10}H_7$
$\dot{C}H_2$
$\dot{C}H_2 \cdot COO \cdot NH \cdot C_{10}H_7$.

3,3 g α-Naphthylisocyanat wurden mit 0,9 g Butylenglykol im Reagensglas über freier Flamme erwärmt[2]). Es trat als-

[1]) C. Neuberg und E. Hirschberg, diese Zeitschr. 20, 443, 1909; 27, 339, 1910.

[2]) Die Reaktion muß in vollkommen trockenen Gefäßen vorgenommen werden, weil sonst das Naphthylisocyanat zu Dinaphthylharnstoff zersetzt wird.

bald eine heftige Reaktion ein, und die Masse erstarrte beim Abkühlen zu glasähnlichen Blöcken. Reiben mit einem Stabe und Zusatz von Ligroin bewirkten schnelle Krystallausscheidung im oberen Teile des Reagensglases, die dann durch die ganze Masse fortschritt. Das Gemisch blieb einen Tag lang stehen, wurde dann unter Erwärmen mit absolutem Alkohol aus dem Reagensglas in ein kleines Becherglas übergespült und mit kochendem absoluten Alkohol behandelt. Es trat restlose Lösung ein. Nach Einbringen in den Eisschrank erfolgte bald Ausscheidung feiner Krystalle, die sich rasch vermehrten. Nach 18stündigem Stehen im Eisschranke wurde abgesaugt und über Schwefelsäure getrocknet. Wir erhielten 2,9 g reinweiße Krystalle vom Schmelzpunkt 153 bis 154°. Sie wurden nochmals aus absolutem Alkohol umkrystallisiert. Es entstanden prismatische Nadeln, büschelförmig angeordnet; sie zeigten den Schmelzpunkt 154°. Aus der Mutterlauge krystallisierten noch 0,9 g, so daß insgesamt 3,8 g (statt 4,3 g) erhalten wurden.

Analyse.

0,4207 g Subst. ergaben 23,4 ccm N (18°, 769 mm).

$C_{26}H_{24}O_4N_2$ Mol.-Gew. 428.

Berechnet: 6,54 % N; gefunden: 6,60 % N.

Das Vorliegen von β-Butylenglykol ergab sich schließlich auch noch durch das

Verhalten des Glykols bei der Oxydation.

α) Oxydation mittels Wasserstoffsuperoxyd und Ferrosulfat.

Dieselbe führt zu Acetaldol zurück.

0,9 g Butylenglykol werden in 40 ccm H_2O_2 von 1 % gelöst und mit einer Spur Ferrosulfat versetzt. Bei 40° schreitet die Oxydation rasch fort und wird schließlich bei 60° bis zum Verschwinden des Hydroperoxyds zu Ende geführt. Das noch in Lösung befindliche Eisensalz wird durch Schütteln mit frisch gefälltem Calciumcarbonat möglichst entfernt.

Das klare Filtrat, das ein wenig nach Crotonaldehyd riecht, reduziert kräftig Fehlingsche Mischung. Mit Natronlauge färbt es sich beim Erwärmen dunkelgelb unter Verbreitung eines Geruches nach Aldehydharz. Mit Nitroprussidnatrium und

Piperidin erhält man typische Blauviolettfärbung, die auf Essigsäurezusatz in Stahlblau umschlägt (vergl. S. 108). Mit p-Nitrophenylhydrazinacetat entsteht ein öliges Hydrazon, nicht etwa die charakteristische Acetaldehydverbindung. Das Oxydationsprodukt besteht also zum Teil aus Acetaldol.

β) Oxydation mittels Bromwasser.

0,9 g β-Butylenglykol werden mit 100 ccm Wasser und 1,6 g Brom in einer Glasstöpselflasche unter zeitweiligem Erwärmen auf 60^0 bis zur Entfärbung geschüttelt.

Die Lösung reduziert dann alkalisierte Fehlingsche Mischung schon in der Kälte; mit heißer NaOH färbt sie sich hellgelb unter Entwicklung eines aldehydharzähnlichen Geruches. Die mit $CaCO_3$ neutralisierte Lösung wird durch Nitroprussidnatrium und Piperidin rot gefärbt und dann auf Essigzusatz violett. Mit Nitroprussidnatrium und Lauge entsteht eine Rotbraunfärbung, die von Essigsäure in Tiefviolett übergeführt wird. Dieses Verhalten deutet auf das Vorliegen eines Ketons; vermutlich handelt es sich um das dem Aldol isomere Ketobutanol (Acetoäthylalkohol) $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$. Die Ketonnatur ergibt sich auch aus dem positiven Ausfall der Reaktion mit Salicylaldehyd und Kalilauge (Rotfärbung). Daß nicht etwa durch Spaltung gebildetes Aceton vorhanden ist, folgt aus dem Ausbleiben der Brom-nitroso-propanprobe. (Auf Zugabe von Aceton tritt sie prompt ein, so daß auch eine Verdeckung nicht im Spiele ist.)

Anhang:

Zur Kenntnis des Acetaldols.

Als praktisch verwendbare Darstellungsweisen von Aldol wurden in der Literatur bisher folgende Verfahren empfohlen; 1. Einwirkung von Cyankalium auf eine wäßrige Lösung von Acetaldehyd nach Claisen[1]; 2. Kondensation von Acetaldehyd mittels Kaliumcarbonat nach Orndorff und Newbury[2], und 3. Einwirkung von Alkali- oder Erdalkaliamalgamen, Alkoholaten oder Cyaniden auf wasserfreien Acetaldehyd[3]. Die beiden ersten Verfahren liefern im günstigsten Falle eine Ausbeute von 40 bis

[1]) L. Claisen, Ann. **306**, 322, 1899.

[2]) W. R. Orndorff und S. B. Newbury, M. **13**, 516, 1892; vgl. E. Charon, Ann. Chim. Phys. **17**, 197, 1899.

[3]) Consortium f. elektrochem. Industrie, Ch. C. **14**, I. 716,

50 % Aldol. Die dritte Methode erwies sich für unsere Zwecke als nicht brauchbar, da dem entstandenen Aldol zuviel Crotonaldehyd oder andere schwer entfernbare giftige Beimengungen, deren Natur wir nicht nachgegangen sind, anhafteten. Zu einem befriedigenderen Ergebnis gelangten wir jedoch mit einem Verfahren, das eine Abänderung der von Seyewetz und Bardin[1]) für die Gewinnung von Crotonaldehyd gegebenen Vorschrift darstellt. Die genannten Autoren hatten vor einiger Zeit zur Bereitung von Crotonaldehyd eine Methode empfohlen, die in der Einwirkung einer 15 %igen wäßrigen Dinatriumsulfitlösung auf wasserfreien Acetaldehyd und nachfolgender langsamer Destillation des erhaltenen Produktes bestand. Diese Herstellungsweise gleicht den oben angeführten Methoden zur Gewinnung von Aldol insofern, als es sich hierbei ebenfalls um ein schwach alkalisches Kondensationsmittel handelt. Es war also höchst wahrscheinlich, daß in der ersten Phase der Reaktion Aldol auftreten und unter geeigneten Bedingungen zu fassen sein würde. Merkwürdigerweise finden sich in der Mitteilung der französischen Autoren hierüber keinerlei Angaben. In der Tat stellten wir fest, daß sich bei der Ausführung der Kondensation mit Dinatriumsulfit zuerst ein dickflüssiges, der Hauptsache nach aus Aldol bestehendes Produkt bildet, das bei langsamer Destillation unter gewöhnlichem Druck Crotonaldehyd ergibt, während die möglichst beschleunigte Erledigung der Operation im Vakuum recht reines Aldol liefert. Bei gut gelungener Durchführung ist das Produkt geruchlos, andernfalls riecht es stechend infolge eines Gehaltes an Crotonaldehyd, von dem es durch erneute fraktionierte Destillation im Vakuum auf Grund des niedrigeren Siedepunktes des Crotonaldehyds befreit werden kann. Im Gegensatz zu den übrigen Aldoldarstellungen verharzt der Aldehyd hierbei in auffallend geringem Maße. Dementsprechend verbesserte sich auch die Ausbeute, die bis auf rund 60 % der Theorie stieg.

Seit diesen Feststellungen haben wir die folgende einfache Art der Gewinnung von Aldol eingeschlagen und möchten sie für die Bereitung dieses Körpers im Laboratorium als bequem und ergiebig empfehlen.

---

[1]) Seyewetz und Bardin, Compt. rend. **141**, 259, 1905.

Zu 200 g frisch destilliertem Acetaldehyd vom Siedepunkt 21^0, der sich in einem engen, hohen zylindrischen Gefäß befand und in einem Eimer mit Eis-Kochsalzmischung auf — 20^0 gekühlt war, wurden unter steter Rührung mittels einer Turbine 50 ccm einer 15$^0/_0$igen Dinatriumsulfitlösung so langsam zugetropft, daß die Temperatur nicht über 0^0 stieg. Das Reaktionsprodukt, eine farblose sirupöse Flüssigkeit, wurde — nach Zusatz von etwas festem Natriumchlorid bis zur erfolgten Schichtenbildung — sofort [1]) ausgeäthert, und nach Trocknung des Ätherauszugs über geglühtem Glaubersalz wurde sodann das Lösungsmittel abgetrieben. Es werden auf diese Weise aus 200 g Acetaldehyd 118 bis 120 g Aldol erhalten; das sind rund 60$^0/_0$ der Theorie. Es ging bei 13 mm die Hauptmenge bei 82^0 über.

Da wenig Reaktionen und keine leicht darstellbaren krystallisierte Verbindungen des Aldols bekannt sind, haben wir nach beiden Richtungen hin Versuche angestellt und gefunden, daß sich unschwer schöne Verbindungen mit p-Bromphenylhydrazin und Diphenylmethandimethyldihydrazin darstellen lassen.

Ferner prüften wir das Verhalten des Aldols

1. zu Fehlingscher und Ostscher Lösung und fanden, daß erstere durch Aldol in der Wärme kräftig, letztere schwach reduziert wird;

2. zu Nitroprussidnatrium und einem sekundären Amin. Die für die Riminische Reaktion so charakteristische Blaufärbung tritt auch mit Acetaldol (z. B. mit einer Lösung 1:1000) ein; sie ist so stark, daß sie keinesfalls auf Spuren etwa beigemengten Acetaldehyds bezogen werden kann.

Daß der positive Ausfall der Proben auch nicht auf einer Depolymerisierung des Aldols zu Acetaldehyd beruht, zeigt das Verhalten einer Aldollösung zu essigsaurem p-Nitrophenylhydrazin. Mit diesem Reagens entsteht lediglich ein rötlich-braunes Öl, nicht aber die so leicht erhältliche und gut krystallisierende gelbe Acetaldehydverbindung. So sind wir zu der Auffassung gelangt, daß alle die erwähnten Reaktionen dem Acetaldol selbst eigen sind, und zwar der flüssigen wie krystallisierten Form (Paraldol).

---

[1]) Es empfiehlt sich, schnell hintereinander zu arbeiten und das Aldol bei möglichst tiefem Druck zu destillieren; andernfalls wird Wasser abgespalten und die Ausbeute durch teilweise Bildung von Crotonaldehyd beeinträchtigt.

Aldol-p-bromphenylhydrazon.

$$CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH : N \cdot NHC_6H_4Br.$$

3,8 g p-Bromphenylhydrazin wurden in einem kleinen Erlenmeyerkölbchen in wenig heißem Alkohol gelöst und mit 1,8 g frisch destilliertem Aldol versetzt. Nach 36 Stunden hatte sich ein reichlicher Krystallbrei abgeschieden, der nach mehrtägigem Stehen abgesaugt und mit verdünntem Alkohol von solcher Konzentration gewaschen wurde, daß in der Mutterlauge gerade keine Trübung entstand. Es resultierten 4,8 g = 91,3% p-Bromphenylhydrazon in Form von gut ausgebildeten gelblichen Krystallen, die im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet wurden. Zur Reinigung lösten wir sie in möglichst wenig heißem Alkohol unter Zugabe von etwas Tierkohle und gaben Wasser bis zur beginnenden Trübung hinzu. Da die Krystalle noch schwach gelb waren, wurden sie abermals in gleicher Weise umkrystallisiert; so wurden weiße, anscheinend hexagonale Blättchen vom Schmelzpunkt 127 bis 128° erhalten.

In methylalkoholischer Lösung ließ sich die Verbindung auf die gleiche Art darstellen.

Analyse.

0,3530 g Subst. gaben 34,4 ccm N (18°, 746 mm).
$C_{10}H_{13}N_2OBr$ Mol.-Gew. 257.
0,2170 g Subst. lieferten 0,1579 g AgBr (= 0,0672 g Br).
Berechnet: N = 10,90%; Br = 31,10%;
gefunden: N = 11,04%; Br = 30,97%.

Aldol-diphenylmethan-dimethyl-dihydrazon.

$$\left.\begin{array}{l} CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH : N \cdot N(CH_3) \cdot C_6H_4 \\ CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH : N \cdot N(CH_3) \cdot C_6H_4 \end{array}\right\rangle CH_2$$

2,6 g Diphenylmethan-dimethyl-dihydrazin wurden in einem Erlenmeyerkölbchen mit 10 ccm 50%iger Essigsäure in Lösung gebracht und mit 1,8 g frisch destilliertem Aldol versetzt. Die Mischung schied auf Zusatz der gleichen Menge Wasser das Dihydrazon als gelbweißen Brei ab [1]), dessen Mutterlauge violett

[1]) Die von v. Braun (Ber. 50, 42, 1917) aufgestellte Regel, daß für die Reaktion mit Diphenylmethan-dimethyl-dihydrazin die Konfiguration maßgebend sei, derart daß z. B. bei den Oxyaldehyden der C_5-Reihe die Anordnung der Atomgruppen dem Schema:

$$-\underset{\diagdown H}{\overset{\diagup OH}{C}}-\underset{\diagdown H}{\overset{\diagup OH}{C}}-\underset{\diagdown H}{\overset{\diagup OH}{C}}-CHO \quad \text{oder} \quad -\underset{\diagdown H}{\overset{\diagup OH}{C}}-\underset{\diagdown H}{\overset{\diagup OH}{C}}-\underset{\diagdown OH}{\overset{\diagup H}{C}}-CHO$$

gefärbt war. Das Gemisch blieb 36 Stunden verschlossen stehen, wurde dann abgesaugt und über Schwefelsäure getrocknet. Es resultierten so 3,6 g Substanz = 89,5 % der Theorie. Das getrocknete Dihydrazon wurde in Chloroform unter Erwärmen gelöst, unter Umschütteln bis zur Klärung mit einer Messerspitze Tierkohle gekocht, alsdann heiß filtriert und mit einigen Tropfen Ligroin bis zur beginnenden Trübung versetzt. Reiben mit einem Glasstabe bewirkte sofortige Krystallabscheidung, die im Eisschrank rasch zunahm. Am folgenden Tage wurde abgesaugt und über Schwefelsäure getrocknet. Die noch schwach gelb gefärbten Krystalle vom Schmelzpunkt 111 bis 112° wurden in gleicher Weise ein zweites Mal umkrystallisiert und ergaben dann farblose perlmutterglänzende Blättchen vom Schmelzpunkt 117°.

Die Mutterlauge wurde von einem abgeschiedenen Harze abgegossen, mit einem Glasstabe gerieben und nochmals unter Zusatz von einigen Tropfen Ligroin zur Krystallisation in den Eisschrank gesetzt. Es wurden so noch 0,3 g allerdings weniger gut ausgebildete Krystalle erhalten. Das Produkt ist leicht löslich in Alkohol, Methylalkohol, Essigester, Benzol, Chloroform und Pyridin; schwer löslich in Wasser, Schwefelkohlenstoff, Äther, Petroläther und Ligroin. Versuche, das Diphenylmethan-dimethyldihydrazon aus anderen Lösungsmitteln als aus Chloroform unter Zusatz von Ligroin umzukrystallisieren, ergaben weniger gute Resultate; es entstanden meistens Schmieren. Einigermaßen befriedigend gelang noch die Abscheidung aus verdünntem Alkohol oder wäßrigem Pyridin.

Analyse.

0,1384 g Subst. gaben 17,3 ccm N (20°, 758 mm).

$C_{23}H_{32}N_4O_2$ Mol.-Gew. 396.

Berechnet: N = 14,14 %; gefunden: N = 14,26 %.

---

oder endlich

$$-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown H}{C}}-\overset{\diagup H}{\underset{\diagdown OH}{C}}-\overset{\diagup H}{\underset{\diagdown OH}{C}}-CHO$$

entsprechen muß, trifft offenbar für das einfacher gebaute Derivat der C_4-Reihe nicht mehr zu, insofern als dieser β-Oxyaldehyd, der in der α-Stellung eine Methylengruppe enthält, trotzdem glatt in Reaktion tritt.

Phytochemische Reduktionen. XVI.

Die Umwandlung von Citral in Geraniol durch Hefe

nebst Anhang:

Darstellung und krystallisierte Abkömmlinge des Zyklocitrals.

Von

Carl Neuberg und Elisabeth Kerb, geb. Etzdorf.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie zu Berlin-Dahlem.)

Die phytochemische Hydrierung der Aldehyde zu den entsprechenden Alkoholen ist bereits in einer beträchtlichen Zahl von Beispielen, die den verschiedensten Reihen und Gruppen entnommen sind, bewerkstelligt und als eine Reaktion von recht allgemeiner Gültigkeit erkannt worden. Dies trifft allerdings nur für die gesättigten Aldehyde zu. Hinsichtlich der ungesättigten Vertreter dieser Körperklasse liegt bisher nur wenig Material vor.

Mit der in anderen Fällen bewährten Versuchsanordnung konnte bislang beim Acrolein sowie Crotonaldehyd kein befriedigendes Ergebnis erzielt werden. Die biochemische Umwandlung in die entsprechenden ungesättigten Alkohole ist jedoch nach Versuchen, die Frl. Dr. Róna[1]) durchgeführt hat, beim Zimtaldehyd, $C_6H_5 \cdot CH : CH \cdot CHO$ möglich, sowie auch beim Citronellal[2]), $CH_2 : C(CH_3) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(CH_3) \cdot CH_2 \cdot CHO$, gelungen.

Bei der besonderen Stellung, welche die Klasse der olefinischen Terpene einnimmt, namentlich in ihren mehrfach ungesättigten Vertretern, schien es uns wünschenswert, das Studium der Reaktion auf das Citral auszudehnen. Diese überaus reaktionsfähige Substanz, die ja auch zu den bekannten Übergängen in die Reihe der zyklischen Verbindungen befähigt ist, erfährt

---

[1]) Elisabeth Róna, diese Zeitschr. 67, 137, 1914.

[2]) C. Neuberg und P. Mayer, diese Zeitschr. 71, 174, 1915.

unter dem Einflusse der biologischen Reagenzien ebenfalls recht interessante Veränderungen. Citral wird nämlich — und zwar vorwiegend — zu dem zugehörigen Alkohol, zum Geraniol, hydriert:

$$(CH_3)_2\,C:CH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot C(CH_3):CH\cdot CHO$$
$$\rightarrow (CH_3)_2\,C:CH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot C(CH_3):CH\cdot CH_2OH.$$

Daneben wird ein kleiner Teil auch in einen optisch aktiven Alkohol umgewandelt. Über die Natur des letzteren können sichere Angaben nicht gemacht werden. Eine Umlagerung des Geraniols

$$(CH_3)_2\cdot C:CH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot C(CH_3):CH\cdot CH_2OH$$

in Linalool

$$(CH_3)_2\cdot C:CH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot \overset{*}{C}(CH_3)(OH)\cdot CH:CH_2,$$

das optisch aktiv sein kann, muß auf Grund der Siedepunkte als ausgeschlossen gelten. Vielleicht handelt es sich um Beimengungen von optisch aktiven Formen (s. S. 120) des Zyklogeraniols

C (CH)₃)₂ ring: H₂C — $\overset{*}{C}H\cdot CH_2OH$; H₂C — $C\cdot CH_3$; CH

oder des α-Terpineols $(CH_3)_2C(OH)$

$^{*}CH$; H_2C — CH_2; H_2C — CH; $C(CH_3)$,

wenngleich das Vorliegen von aktivem Citronellol

$$(CH_3)_2\cdot C:CH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot \overset{*}{C}H(CH_3)\cdot CH_2\cdot CH_2OH,$$

d. h. die partielle Reduktion der der Aldehydgruppe benachbarten Äthylendoppelbindung, nicht ausgeschlossen ist. Versuche, die zur Entscheidung angestellt wurden, ergaben keine völlige Klärung.

Überläßt man käufliches Geraniol der Einwirkung von Hefe, so treten dabei kleine Mengen von optisch aktiver Substanz auf, unter gleichzeitiger Verminderung des Bromadditionsvermögens, was sowohl auf einer Umwandlung in ein Zyklogeraniol als auf der Reduktion zu Citronellol beruhen könnte.

Freilich ist die Drehung des aus Citral hervorgegangenen Hydrierungsproduktes zu hoch, als daß die Beimischung nur aus d-Citronellol bestehen könnte. Es beträgt nämlich der

größte bisher beobachtete Drehungswert[1]) des d-Citronellols $+4,32^0$. Das stärkste Drehungsvermögen fanden wir in Versuch 2, wo das Citralreduktionsprodukt eine spezifische Drehung von $+2,3^0$ aufwies. Es ist ausgeschlossen und mit den Ergebnissen der Bromadditionsversuche sowie mit der Ausbeute bei der Umwandlung in die Phtalestersäure nicht in Einklang zu bringen, daß d-Citronellol beinahe die Hälfte des Reaktionsproduktes ausmachen sollte.

Andererseits haben wir in entsprechenden Ansätzen mit dem zum Ring geschlossenen Isomerisationsprodukt des Citrals, einem Gemisch von α- und β-Zyklocitral, auch geringe Mengen eines optisch aktiven Reduktionsproduktes gefunden, während freilich die Hauptmenge des Zyklocitrals unverändert blieb.

In beiden Fällen, d. h. in den Versuchen mit Geraniol und Zyklocitral, war die optische Aktivität weit geringer als in den Ansätzen mit Citral. Da jene Veränderungen, die die biologischen Reagenzien teils am Citral, teils an dessen Reduktionsprodukten hervorrufen, sich doch nicht beurteilen ließen, begnügten wir uns mit der Feststellung, daß — auch nach dem Ausfall der Bromadditionsversuche — rund 90% der aus Citral hervorgegangenen phytochemischen Reduktionsprodukte aus Geraniol, dem zugehörigen Alkohol, bestehen.

Denkbar wäre es, wie schon vor vielen Jahren einmal F. Tiemann und F. W. Semmler[2]) zur Erwägung gestellt haben, daß im Citral außer den beiden strukturell inaktiven Formen kleine Mengen eines Isomeren der Formel:

$$CH_3 \cdot C(CH_3):CH \cdot CH:CH \cdot \overset{*}{C}H(CH_3) \cdot CH_2 \cdot CHO$$

oder $$CH_2:C(CH_3) \cdot CH_2 \cdot CH:CH \cdot \overset{*}{C}H(CH_3) \cdot CH_2 \cdot CHO$$

vorkommen, deren Menge begrenzt ist durch die Neigung einer der beiden doppelten Bindung zur Wanderung nach dem elektronegativen, mit Sauerstoff beladenen Ende des Moleküls, deren Bildung jedoch begünstigt werden könnte durch Verschiebung der Gleichgewichtslage infolge der Entstehung eines Alkohols bei dem zweifelsohne asymmetrischen Verlaufe der phytoche-

[1]) C. Neuberg und P. Mayer, diese Zeitschr. 71, 174, 1915.
[2]) F. Tiemann und F. W. Semmler, Ber. 26, 2715, 1893.

mischen Reduktion. Aus diesen racemischen Aldehydformen könnte bei der biochemischen Hydrierung natürlich ein aktiver Alkohol hervorgehen.

Welches auch die Konfiguration des optisch aktiven Begleiters sein mag, er kann sein Auftreten nur einem asymmetrischen Verlauf der Reaktion verdanken.

Mit Sicherheit dürfen wir also nach der nunmehr in verschiedenen Fällen beobachteten Wirkungsweise (vgl. die auf S. 97 angeführten Beispiele) die phytochemische Reduktion zu den asymmetrisch vor sich gehenden Reaktionen zählen.

Ferner haben wir auch in diesem Falle festgestellt, daß die gleichzeitige Einleitung einer eigentlichen Gärung für die Verwirklichung der Reaktion unnötig ist, indem sie auch bei der einfachen Digestion des Citrals mit Hefe erfolgt. (S. auch S. 98 u. 99).

Die Einzelheiten ergeben sich aus den nunmehr mitzuteilenden Versuchen.

Das benötigte Citral war von der chemischen Fabrik Schimmel & Co. in Miltitz bei Leipzig bezogen worden. Vor dem Gebrauch wurde es einer nochmaligen sorgfältigen Rektifikation im Vakuum unterworfen und auf sein optisches Verhalten geprüft; es war vollkommen inaktiv.

Versuch 1.

10 g Citral wurden zu einem gärenden Gemisch von 250 g Rohrzucker, 2500 ccm Wasser und 250 g Unterhefe K tropfenweise unter Umschütteln hinzugesetzt. Nachdem aller Aldehyd eingeflossen war, ließ die Gärung nach und kam fast zum Stillstande, erholte sich jedoch beim Verweilen im Brutschranke. Nach 24 Stunden war die Gärung erloschen und mußte durch erneuten Zusatz von 100 g Hefe wieder entfacht werden. Wegen der Unlöslichkeit des Citrals in Wasser war häufiges Schütteln notwendig. Die sehr langsame Gärung wurde im Verlauf von 14 Tagen durch sechsmaligen Zusatz von 100 g Hefe im Gang gehalten. Der Citronengeruch veränderte sich allmählich, bis er gänzlich verschwand und in Rosenduft überging. Als dann auch aller Zucker umgesetzt war, wurde das Gärgut zweier solcher Ansätze unter gutem Nachspülen in ein kupfernes Destilliergefäß übergeführt und im

Dampfstrom destilliert, bis keine Öltröpfchen mehr übergingen. Das Destillat wurde sorgfältig ausgeäthert und der Ätherauszug am Birektifikator nach Heinzelmann auf etwa 500 ccm abdestilliert. Diese ätherische Lösung wurde dann zur Befreiung von einem nicht reduzierten Citralrest[1]) zweimal mit je 100 ccm 40%iger Natriumbisulfitlösung, der etwas Essigsäure zugesetzt war[2]), ausgeschüttelt und zur Entfernung der Säure wieder mit Sodalösung[3]) und darauf mit Wasser behandelt. Alsdann wurde die ätherische Schicht über frisch entwässertem Natriumsulfat getrocknet und nach Filtration von demselben und Nachwaschen mit absolutem Äther weiter konzentriert und noch einmal über Natriumsulfat getrocknet. Nach vollständiger Entfernung des Äthers hinterblieb eine gelbbraune Flüssigkeit, die keinerlei Aldehydeigenschaften mehr zeigte. Sie wurde im Vakuum destilliert und ging in der Hauptmenge bei einem Druck von 14 bis 15 mm bei 115 bis 116° über. Im Kolben verblieb ein tiefbrauner Rückstand, aus dem sich nichts Einheitliches herausfraktionieren ließ. Das farblose, intensiv nach Rosen riechende Destillat war optisch aktiv und zwar dextrogyr. Die Ausbeute an alkoholischem Reduktionsprodukt blieb in diesem Falle geringer als sonst; doch ist zu berücksichtigen, daß bei der langen Dauer der Einwirkung nicht unbeträchtliche Mengen von Citral sich verflüchtigt haben und daß auch Umwandlungen in anderer Richtung keineswegs auszuschließen sind.

Um für eine genaue Untersuchung mehr Material zu gewinnen, wurde noch eine Reihe gleichartiger Experimente angestellt.

Versuch 2.

In 3 Ansätzen wurden je 5 g Citral zu einer in flotter Gärung befindlichen Mischung von 250 g Zucker, 2500 g Wasser und 250 g obergäriger Hefe M tropfenweise gesetzt. Dadurch wurde die Gärung erheblich verlangsamt, kam aber nicht zum Stillstande. Während 14 Tagen befanden sich die Flaschen teils

---

[1]) Eine abgedampfte Probe ergab nämlich noch einen geringen Gehalt an Citral.

[2]) nach F. Tiemann, Ber. **31**, 3310, 1898; **32**, 117, 812, 1899.

[3]) Eine Untersuchung des Sodaauszuges auf etwaige dem Reduktionsprodukt entsprechende, durch Oxydation gebildete saure Substanzen blieb erfolglos.

im Brutschrank, teils in Kübeln mit Wasser von 35°; sie wurden häufig umgeschüttelt und alle 3 Tage mit 100 g frischer Hefe beschickt. Dann hatte sich der Geruch des Citrals wieder in Rosenduft gewandelt, und der Zucker war vergoren. Die 3 Ansätze wurden sodann mit Wasserdampf destilliert und wie oben aufgearbeitet. Die 15 g Citral lieferten 5,5 g an nichtaldehydischem Produkt vom Siedepunkt 114 bis 115° bei 13 bis 14 mm. Es war rechtsdrehend und zwar $= +4{,}0^\circ$ in 2 dcm langer Schicht; $D_{15} = 0{,}884$.

Versuch 3.

3 Ansätze von je 250 g Zucker in 2500 g Wasser wurden mit 250 g Hefe K (untergärig) zum Gären gebracht und mit 20 g Citral versetzt. Letzteres wurde aber nicht hintereinander, sondern innerhalb dreier Tage portionsweise hinzugefügt. Täglich erfolgte Zugabe von 100 g neuer Hefe. Nach 10 Tagen wurde verarbeitet und 18,5 g an Reduktionsprodukt gewonnen. Der Siedepunkt war 115 bis 116° bei 18 mm. Die Rechtsdrehung betrug 1,7° im 10 cm langen Rohr. 0,2929 g Substanz verbrauchten 18,8 ccm einer Bromlösung, die 3 g Brom in 100 ccm Chloroform gelöst enthielt. Für reines Geraniol würden sich 20,3 ccm berechnen. —

Ohne Zucker sind dann die Versuche 4 und 5 angestellt.

Versuch 4.

5 Flaschen von 10 l Inhalt wurden jede mit 1000 g Hefe (obergärige Rasse M), 10 l Wasser und 25 g Citral beschickt. Unter sehr häufigem, gründlichem Umschütteln blieben die Ansätze 4 Wochen stehen, während welcher der Geruch des Citrals erst teilweise dem Rosenduft gewichen war. Es wurden dann in jede Flasche 250 g Hefe frisch nachgefüllt und das Gemisch weitere 4 Wochen unter Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen[1]). Als nunmehr der Geruch des Ausgangsmaterials gänzlich geschwunden war, erfolgte die Aufarbeitung wie bei den bereits beschriebenen Versuchen. Nur mußte beim Ausäthern zur besseren Trennung der Schichten etwas Alkohol hinzugefügt werden; denn letzterer war in diesen

[1]) Das Citral wirkt stark antiseptisch, es trat nicht im geringsten Fäulnis ein.

Ansätzen ohne besondere Zuckerzugabe nur in kleinen Mengen zugegen. Wir erhielten 30 g einer farblosen, neutralen, stark nach Rosen riechenden Flüssigkeit vom Siedepunkt 117 bis 120° bei 16 bis 18 mm Druck. Sie erwies sich wieder als rechtsdrehend, und zwar zu + 1,6° in 10 cm langer Schicht.

0,5428 g Subst., in 5 ccm Chloroform gelöst, verbrauchten 35,3 ccm einer Bromlösung von 3 g Brom in 100 ccm Chloroform; theoretisch hätten 37,6 ccm aufgenommen werden müssen.

Versuch 5.

In 3 Zehnliterflaschen wurde je 1 kg obergärige Hefe (Rasse XII) in 10 l Wasser suspendiert und mit je 50 g Citral beschickt. Unter mehrmaligem täglichem Umschütteln blieben die Flaschen bei Zimmertemperatur (16 bis 22°) 10 Wochen stehen. Von Zeit zu Zeit erfolgte Zusatz von frischer Hefe. Die Aufarbeitung geschah wie in den Versuchen mit Zuckerzugabe. Es resultierten 52 g = 30% an Reduktionsprodukt. Die Rechtsdrehung betrug + 1,3° in 10 cm langer Schicht. Das erhaltene Geraniol siedete unter 14 bis 15 mm Druck bei 114 bis 115°.

Analyse des Gärungsgeraniols.

0,3297 g Subst. gaben 0,9380 g CO_2 und 0,3478 g H_2O.
$C_{10}H_{18}O$ Mol.-Gew. 154
Berechnet: C = 77,92%; H = 11,69%;
gefunden: C = 77,62%; H = 11,72%.

Wir bestimmten das spez. Gew. bei 20° zu 0,8798, während in der Literatur für Geraniol das spez. Gew. 0,882 bei 15° verzeichnet ist.

0,3331 g Subst., in 5 ccm Chloroform gelöst, verbrauchten 22,0 ccm einer Brom-Chloroformlösung, die 3 g Br_2 in 100 ccm enthielt; für 2 Doppelbindungen würden sich 23,1 ccm berechnen[1]).

Geraniol-Calciumchlorid.

Charakteristisch für Geraniol ist eine krystallisierte Verbindung mit Calciumchlorid, in der Geraniol sozusagen die Stelle des Krystallwassers vertritt[2]). Wir bereiteten diese Ver-

---

[1]) Proben mit reinem Geraniol verbrauchten nahezu die theoretischen Mengen dieser Bromlösung.

[2]) O. Jacobsen, Ann. 157, 234, 1871.

bindung mit unserer Substanz in folgender Weise. Ein Teil frisch geschmolzenes und gepulvertes Calciumchlorid wurde mit 2 Teilen des Gärungs-Geraniols in einem geschlossenen Gefäß auf 40 bis 45° erwärmt. Die Lösung wurde dann bei Fernhaltung aller Feuchtigkeit im Exsiccator filtriert und auf — 10° gekühlt. Es schieden sich nach einigem Stehen die weißen Krystalle der Doppelverbindung aus.

Ferner haben wir das

Silbersalz der Geranylphthalestersäure

in reichlicher Menge herstellen können.

2 g Subst. wurden mit 2 g Phthalsäureanhydrid in einem weiten Reagensglase mit Chlorcalciumrohrverschluß 45 Min. im Wasserbade erhitzt und dann 5 mal mit etwas Wasser ausgekocht; das Wasser wurde jedesmal abdekantiert. Es resultierte ein hellbraunes Öl, das mit 1,4 ccm Ammoniak aufgenommen und mit 20%-iger alkoholischer Silbernitratlösung versetzt wurde[1]). Es entstand ein gelber, etwas klebriger Niederschlag, der nach 3stündiger Aufbewahrung im Eisschrank und Durcharbeitung mit einem Glasstabe abgesaugt und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet wurde. Die nahezu feste Masse wurde zweimal aus heißem Methylalkohol umkrystallisiert, wobei weiße Krystalle resultierten, die nach der ersten Krystallisation noch mit etwas gelblichem Öl behaftet waren. Ihr Schmelzpunkt lag 131 bis 132°[2]); sie bräunten sich nach längerem Stehen.

0,2687 g Subst. ergaben 0,0707 g Ag.
$C_{18}H_{21}O_4Ag$. Mol.-Gew. 409.
Berechnet: 26,40% Ag; gefunden: 26,31% Ag.

Da die entsprechende Verbindung des Citronellols um 10° niedriger schmilzt, so ist eine Verunreinigung mit dem Citronellylphthalestersalz auszuschließen; demnach ist auch hierin ein Beweis dafür zu erblicken, daß die phytochemischen Hydrierungsprodukte des Citrals in der Hauptmenge aus Geraniol bestehen.

---

[1]) H. Erdmann u. P. Huth, Journ. f. prakt. Chem. 56, 18, 1897.

[2]) In der Literatur (H. Erdmann u. P. Huth, l. c.) ist der Schmelzpunkt 133° angegeben.

Versuch 6.

Behandlung von Geraniol mit Hefe.

In der Meinung, die optische Aktivität unseres Gärungsgeraniols könne durch partielle Reduktion des Geraniols zu Citronellol hervorgerufen sein, versuchten wir, fertiges Geraniol in ähnlicher Weise zu hydrieren wie die Aldehyde. Verwendet wurde Geraniol von Schimmel & Co., das sich im Polarisationsapparat als völlig optisch inaktiv erwies.

1 kg Hefe, obergärige Rasse M, wurde in 10 l Wasser suspendiert und mit 50 g Geraniol versetzt. Unter häufigem Umschütteln blieb die Mischung 2 Monate bei Zimmertemperatur stehen. Genau wie bei den Ansätzen mit Citral wurde dann mit Wasserdampf übergetrieben, ausgeäthert, der Ätherauszug über geglühtem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel am Birektifikator verjagt und der Rückstand im Vakuum destilliert. Wir erhielten bei einem Druck von 13 bis 14 mm 44 g einer bei 113 bis 114° siedenden Substanz. Während das Ausgangsmaterial gänzlich inaktiv gewesen war, zeigte dieses zurückgewonnene Produkt eine geringe Rechtsdrehung und zwar von + 0,3° im 20 cm langen Rohr. Ein Bromierungsversuch ergab, daß 0,3638 g unserer Substanz, gelöst in 50 ccm Chloroform, 23,9 ccm einer Brom-Chloroformlösung verbrauchten, die in 100 ccm 3 g Brom enthielt. Theoretisch hätte das Geraniol 25,2 ccm dieser Lösung entfärben müssen.

Versuch 7.

Behandlung von Zyklocitral mit Hefe.

Der wie üblich angestellte Versuch mit 15 g Zyklocitral, das auf die unten (s. S. 120) angegebene Weise gewonnen war, und gärender Hefe ergab ein Substanzgemisch, das zum größten Teile aus unverändertem Zyklocitral bestand. Daneben war in kleiner Menge ein alkoholisches Umwandlungsprodukt entstanden, das jedoch keinen scharfen Siedepunkt besaß, wohl aber eine optische Aktivität, entsprechend + 0,6° im 2 dcm-Rohr, aufwies. Die Vergärung dieses Ansatzes vollzog sich noch viel langsamer als beim Citral, so daß dem Zyklocitral zweifelsohne größere Giftigkeit gegenüber Hefe zukommt. Außerdem war

das Reaktionsprodukt viel weniger einheitlich[1]) als bei dem olefinischen Isomeren, so daß infolge des abweichenden Verhaltens ein Vergleich kaum möglich erscheint.

Die Frage, welches der optisch aktive Begleiter des durch phytochemische Reduktion gebildeten Geraniols ist, muß also offen bleiben. Wahrscheinlicher als die Gegenwart von d-Citronellol ist immerhin die Anwesenheit eines rechtsdrehenden Zyklogeraniols, von dessen 4 möglichen Formen:

CH_3 CH_3 / C / H_2C C·CHO / H_2C C·CH_3 / CH_2 — $\triangle^1$- oder β-Zyklocitral

CH_3 CH_3 / C / H_2C $\overset{*}{C}H$·CHO / H_2C C·CH_3 / CH — $\triangle^2$- oder α-Zyklocitral

CH_3 CH_3 / C / H_2C $\overset{*}{C}H$·CHO / H_2C $\overset{*}{C}H$·CH_3 / CH — $\triangle^3$-Zyklocitral

CH_3 CH_3 / C / HC $\overset{*}{C}H$·CHO / HC $\overset{*}{C}H$·CH_3 / CH_2 — $\triangle^4$-Zyklocitral

die α-Verbindung ein asymmetrisches C-Atom besitzt, während zwei weitere Bindungsisomere sogar 2 asymmetrische Kohlenstoffatome aufweisen.

Anhang:

Zur Kenntnis des Zyklocitrals.

Über das recht wenig bekannte Zyklocitral möchten wir folgende Angaben anschließen:

Wir stellten das Zyklocitral dar, indem wir uns auf die Angaben des Patentverfahrens von Haarmann und Reimer[2]) stützten, gemäß dem Citral mit einem primären Amin kondensiert und das Kondensationsprodukt mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt wird.

---

[1]) Auch bei rein chemischen Einwirkungen zeigen die Zyklocitralisomeren sehr verschiedene Reaktionsfähigkeit (Haarmann u. Reimer, Ch. C. **03**, I, 858.).

[2]) Haarmann und Reimer, Ch. C. **1901**, II, 716.

Wir gaben zu 45 g Citral 54 g frisch destilliertes Anilin. Es bildete sich sofort unter Erwärmung und Trübung Citraliden-Anilin. Bereits nach kurzer Zeit war der Geruch des Citrals gänzlich geschwunden und einem anderen gewichen, der an keinen der Komponenten erinnerte. Das Citraliden-Anilin ließen wir mit Hilfe eines Tropftrichters sehr langsam in 400 g in einem dickwandigen Becherglase befindliche konzentrierte Schwefelsäure tropfen, die auf — 15° abgekühlt war. Während des ganzen Prozesses wurde mittels einer Rührvorrichtung das Citraliden-Anilin gleichmäßig verteilt und dadurch auch eine klumpige Abscheidung des Anilinsulfats verhindert. Nachdem alles Citraliden-Anilin zugeflossen war, wurde die Mischung in einen Rundkolben gegeben, dessen Boden mit Eisstückchen bedeckt war, und schließlich Wasser hinzugefügt. Bei der nun ausgeführten Wasserdampfdestillation ging sofort ein gelbes Öl von campherartigem Geruch über, und schon nach kurzer Zeit war alles entstandene Zyklocitral übergetrieben. Das Destillat wurde sorgfältig einige Male mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung zur Entfernung gebildeter Zyklogeraniumsäure[1]) mit verdünnter Sodalösung behandelt. Getrocknet wurde mit frisch geglühtem Natriumsulfat. Den Äther destillierten wir sorgfältig am Birektifikator ab und bewahrten das Zyklocitral in einer zugeschmolzenen Flasche über etwas Glaubersalz und unter einer Kohlensäureatmosphäre auf. Die Ausbeute an zyklischem Aldehyd belief sich jedesmal auf nur etwa 15% des angewendeten Citrals, und trotz mehrfacher Abänderungen konnten wir nicht zu einer besseren Ausbeute gelangen; auch schien es nicht ratsam, in größeren Portionen, als oben angegeben, zu arbeiten. So wiederholten wir denn den angegebenen Prozeß einige Male, schmolzen das erhaltene Produkt jedesmal ein und destillierten das Zyklocitral nochmals, wenn eine genügende Menge beisammen war. Bei einem Drucke von 20 mm ging die Hauptmenge zwischen 85 und 100° über. Ein konstanter Siedepunkt war nicht zu erzielen, ein Verhalten, das ja auch erklärlich ist, da ein Gemisch von α- und β-Zyklocitral vorliegen

---

[1]) Zyklocitral (Trimethyl-tetrahydrobenzaldehyd) oxydiert sich, wie Benzaldehyd, bereits teilweise an der Luft, wobei Zyklogeraniumsäure entsteht. (F. Tiemann, B. **33**, 3719 1900.)

mußte[1]). Das Produkt war leichtflüssig und farblos, besaß einen zugleich am Campher und Kümmel erinnernden Geruch, war unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und Äther. Mit fuchsinschwefliger Säure entstand eine intensive Violettfärbung und mit ammoniakalischer Silberlösung war ein schöner Silberspiegel zu erhalten. Wir bestimmten das spez. Gew. und fanden, daß unser Zyklocitral die Dichte 0,960 bei 18° hatte[2]).

Zur Identifikation stellten wir das Semicarbazon nach der Vorschrift von Tiemann (l. c.) dar und erhielten damit übereinstimmend in reinem Zustande das Semicarbazon des β-Zyklotrals vom Schmelzpunkt 167°.

Ferner suchten wir nach einigen neuen krystallisierten Derivaten vom Zyklocitral und fanden, daß das Thiosemicarbazon und das p-Nitrophenylhydrazon leicht darstellbar sind.

Zyklocitral-thiosemicarbazon.

$C_9H_{15} \cdot CH : N \cdot NH \cdot CS \cdot NH_2$.

1,5 g Zyklocitral wurden in alkoholischer Lösung mit 0,9 g Thiosemicarbazid in wenig Wasser zusammengebracht und Alkohol bis zur klaren Mischung hinzugefügt. Diese trübte sich nach einiger Zeit durch Ausscheidung weißer, perlmutterartiger Blättchen, die sich dann rasch vermehrten. Standen Krystalle zum Impfen zur Verfügung, so trat schnell Krystallisation ein. Nach 24 Stunden wurde abgesaugt, ausgewaschen und im Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute 1,6 g = 73 %; Schmelzpunkt 199°. Nach Umkrystallisation aus verdünntem Alkohol war der Schmelzpunkt auf 200 bis 201° gestiegen; durch nochmalige Umkrystallisation einer Probe blieb er unverändert.

Analyse. 0,1564 g Subst. gaben 25,35 ccm N (20°, 765 mm);
0,1231 g Subst. gaben 0,1249 g $BaSO_4$ (= 0,0172 g S).
$C_{11}H_{19}N_3S$ Mol.-Gew. 225
Berechnet: N = 18,67 %; S = 14,22 %;
gefunden: N = 18,68 %; S = 13,97 %.

---

[1]) α-Zyklocitral zeigt nach Haarmann u. Reimer (Ch. C. 03, I, 857) Kp_{20} 90 bis 95°, die β-Verbindung nach F. Tiemann (Ber. 33, 3721, 1900) Kp_{15} 95 bis 100°.

[2]) In der Literatur wird für α-Zyklocitral D_{20} 0,930 und für β-Zyklocitral D_{20} 0,957 angegeben. (Ber. 33, 3721, 1900 u. Ch. C. 1903, I, 857.)

Zyklocitral-p-nitrophenylhydrazon.

$C_9H_{15} \cdot CH : N \cdot NHC_6H_4(NO_2)$.

1,5 g Zyklocitral, in Alkohol gelöst, wurde mit 1,5 g p-Nitrophenylhydrazin in essigsaurer Lösung versetzt. Beim Zusammenbringen entstand sofort eine Trübung, und es fiel bald ein rotes Öl nieder, das schon seiner Schwere zufolge nicht unverändertes Zyklocitral sein konnte. Es erstarrte langsam von selbst, schneller beim Reiben mit einem Glasstabe zu einer harten Krystallkruste. Sie wurde nach 24stündigem Stehen in der Kälte abgesaugt, auf Ton gepreßt und im Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Es resultierten 3,2 g einer rotgelben festen Krystallmasse; sie löste sich leicht in Alkohol und Benzol, schwer in Ligroin und Petroläther. Zur Umkrystallisation diente verdünnter Alkohol, wobei anfangs eine ölige Schmiere[1]) ausfiel, die wir sofort abfiltrierten. Im Filtrat begann alsdann das Hydrazon sich krystallinisch auszuscheiden. Um es gänzlich von den öligen Verunreinigungen zu befreien, krystallisierten wir es in derselben Weise noch zweimal um und erhielten so schöne orangefarbene Krystalle vom Schmelzpunkt 125°.

Analyse. 0,1055 g Subst. gaben 13,8 ccm N (22°, 750 mm).

$C_{16}H_{21}N_3O_2$ Mol.-Gew. = 287

Berechnet: N = 14,63 %; gefunden: N = 14,94 %.

---

[1]) vermutlich das Derivat des anderen Zyklocitralisomeren.

Berichtigung.

Die in dieser Zeitschr. **90**, Heft 5/6, **91**, Heft 1/2 sowie **91**, Heft 3/4 erschienenen Mitteilungen von Ivar Bang stellen eine Reihe zusammenhängender Untersuchungen dar. Irrtümlicherweise sind die Abhandlungen I. Bang: Mikrobestimmung der Blutlipoide (diese Zeitschr. **91**, 235), sowie I. Bang: Verfahren zur titrimetrischen Mikrobestimmung der Blutlipoide (diese Zeitschr. **91**, 86) zwischen den erwähnten Abhandlungen anstatt vor ihnen abgedruckt.

Über den Carnosingehalt des normalen und pathologisch veränderten menschlichen Herzmuskels.

Von

F. Bubanović.

(Eingegangen am 17. Juli 1918.)

Obwohl das Carnosin unter den stickstoffhaltigen Extraktivstoffen des Säugetiermuskels eine sehr wichtige Stellung einnimmt, ist seine physiologische Rolle und Bedeutung noch unbekannt. Es erschien daher nicht ohne Interesse, festzustellen, ob vielleicht der Carnosingehalt der Muskulatur bei der dauernd erhöhten Tätigkeit bzw. dauernd vermehrten Inanspruchnahme derselben eine weitgehende Veränderung erfahre. O. v. Fürth und C. Schwarz hatten seinerzeit[1]) beim Vergleiche normaler und durch einen kurzdauernden Ermüdungsversuch ermüdeter Extremitätenmuskulatur des Hundes keinen Anhaltspunkt dafür gefunden, daß die Carnosinfraktion bei der Arbeitsleistung eine weitgehende quantitative Veränderung erfahre. Der Vergleich normaler, atrophischer und hypertrophischer menschlicher Herzmuskulatur erschien vom Gesichtspunkte dieser Fragestellung aus um so mehr als ein geeignetes Untersuchungsobjekt, als bisher noch keine Angaben über den Carnosingehalt des menschlichen Herzens vorlagen. Die Untersuchung ist in der chemischen Abteilung des physiologischen Institutes der Wiener Universität auf Veranlassung des Leiters dieser Abteilung, Herrn Prof. v. Fürth, ausgeführt worden.

Die bei dieser Untersuchung zur Verarbeitung gelangten normalen Herzen verdanke ich der Güte des Vorstandes des

---

[1]) Diese Zeitschr. 30, 413, 1911

Institutes für gerichtliche Medizin, Herrn Prof. Haberda. Dieselben entstammen gesunden, durch einen Unfall ums Leben gekommenen Individuen.

Das pathologische Material erhielt ich durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Leiters des Institutes für pathologische Anatomie, Herrn Prof. v. Wiesner.

Es gelangte stets nur relativ frisches (nicht angefaultes) Material zur Verarbeitung. Dasselbe wurde möglichst vom sichtbaren Fette befreit, mit der Fleischhackmaschine zerkleinert und abgewogen. Die Bestimmung des Carnosingehaltes erfolgte genau nach dem Vorgange von v. Fürth und Hryntschak[1]). Die schließlich erhaltene Carnosinfraktion wurde auf ebensoviel Kubikzentimeter verdünnt, als das Gewicht der ursprünglichen Fleischprobe in Grammen betragen hatte. In dieser Lösung wurde dann der Carnosingehalt, sofern die Menge derselben reichte, sowohl nach dem Prinzipe der „Diazocolorimetrie“ als auch nach demjenigen der „Kupfercolorimetrie“ bestimmt, um so eine Kontrolle der Resultate zu erzielen.

Was das letztere Verfahren betrifft, ergab sich eine kleine Vereinfachung desselben. Es ist nicht ganz leicht, sich absolut reines und einwandfreies Carnosinkupfer zu verschaffen, und die ammoniakalischen Standardlösungen haben sich als wenig haltbar erwiesen, insofern sie bei mehrmonatlichem Stehen metallisches Kupfer abscheiden. Es hat sich nun aber gezeigt, daß eine typische Fehlingsche Lösung (also eine Lösung, die im Liter 34,63 g krystall. Kupfervitriol enthält) bei halber Verdünnung in ihrer Färbungsintensität genau der vorgeschriebenen Carnosinkupferlösung entspricht und sehr wohl statt einer solchen bei Anwendung eines Colorimeters nach Dubosq als Standardlösung dienen kann.

Es gelangten folgende Bestimmungen zur Durchführung:

A. Normale Herzen.

1. 26jähriger Mann. Es kamen 100 g zur Verarbeitung. Die Diazocolorimetrie ergab 0,20 % Carnosin.

2. 36jähriger Mann. 200 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,25 %, kupfercolorimetrisch 0,28 %.

[1]) Diese Zeitschr. 64, 171, 1914.

3. 41jährige Frau. 50 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,30%.

4. 48jährige Frau. 170 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,25%, kupfercolorimetrisch 0,30%.

5. 30jährige Frau. 100 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Kupfercolorimetrisch 0,20%.

B. Pathologisch veränderte Herzen.

1. 48jähriger Mann. Carcinoma oesophagi. Braune Atrophie des Herzens. 115 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,20%, kupfercolorimetrisch 0,25%.

2. 43jähriger Mann. Lungentuberkulose. Atrophie des Herzens mit Konkretionen. 90 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,25%.

3. 47jährige Frau. Endocarditis chronica. Hydrops universalis. Hypertrophie des Herzens. 255 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,20%, kupfercolorimetrisch 0,25% und 0,30%.

4. 60jähriger Mann. Marasmus. Atrophie des Herzens. 80 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,20%.

5. 31jährige Frau. Lungentuberkulose. Braune Atrophie des Herzens. 55 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,20%.

Die Resultate dieser Versuche sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Herzen:	% Carnosin	
	Diazo-colorimetrisch	Kupfer-colorimetrisch
A. Normale		
1.	0,20	—
2.	0,25	0,28
3.	0,30	—
4.	0,25	0,30
5.	—	0,20
B. Pathologische		
1. Braune Atrophie	0,20	0,25
2. Atrophie mit Konkretionen	0,25	—
3. Hypertrophie	0,20	0,25 0,30
4. Atrophie	0,20	—
5. Atrophie	0,20	—
6. Braune Atrophie	0,25	0,30
7. Parenchymatöse Degeneration	0,20	—
	0,23	0,27
	0,25	

6. 16jähriger Knabe. Appendicitis perforativa gangraenosa. Peritonitis. Atrophie des Herzens. 110 g Fleisch bearbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,25%, kupfercolorimetrisch 0,30%.

7. 58jährige Frau. Verbrennung. Parenchymatöse Degeneration des Herzens. 100 g Fleisch verarbeitet. Carnosingehalt: Diazocolorimetrisch 0,20%.

Die Versuche ergeben also, daß der Carnosingehalt des menschlichen Herzens ein sehr konstanter ist, weder durch Hypertrophie noch durch Atrophie der Muskulatur wesentlich beeinflußt wird. Derselbe beträgt 0,2 bis 0,3%, im Mittel 0,25%, und stimmt mit den von v. Fürth und Hryntschak für die Skelettmuskulatur der Säugetiere ermittelten Werten (0,2 bis 0,3%, im Mittel 0,27%) überein.

Über Bakterien-Katalase.

II. Mitteilung.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 17. Juli 1918.)

Wie früher[1]) auseinandergesetzt wurde, scheinen Isolierungsversuche der auf einem Nährboden von bekannter Zusammensetzung gebildeten Bakterienkatalase lohnend. Um bei diesen Versuchen Kriterien und Vergleichsmomente mit näher studierten Katalasen zu haben, ist eine gewisse Orientierung über die Wirkungsweise der Bakterienkatalase sehr erwünscht. Ich habe daher Versuche nach dieser Richtung angestellt, über die ich im folgenden berichte.

Bekanntlich ist die Kinetik der Wasserstoffsuperoxydspaltung durch Katalysatoren und speziell der Katalasenwirkung häufig und vorzüglich untersucht worden. Die Literatur, die mit den grundlegenden Untersuchungen Bredigs beginnt, findet man in den zusammenfassenden Darstellungen R. O. Herzogs in Oppenheimers Lehrbuch der Fermente und in Eulers Allgemeiner Chemie der Enzyme. Die neuesten Untersuchungen stammen von Waentig[2]) und seinen Mitarbeitern.

Nach diesen Arbeiten folgen die Katalasen unter geeigneten Versuchsbedingungen anscheinend sehr einfachen Gesetzen. Ebenso wie es Bredig für die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch kolloides Platin gefunden hatte, ist auch die

---

[1]) Über Fermentbildung VII. Mitt., diese Zeitschr. 88, 35, und Über Bakterien-Katalase, diese Zeitschr. 89, 350.

Katalasespaltung des Wasserstoffsuperoxyds eine Reaktion erster Ordnung (Senter u. a.). Auch die Beziehung der Fermentkonzentration zur Reaktionsgeschwindigkeit ist nach Senter bei der Blutkatalase einfach, indem sich der Quotient Reaktionsgeschwindigkeit : Konzentration bei wechselnden Fermentkonzentrationen als konstant erwies. Die Autoren geben aus ihrem Versuchsmaterial Protokolle, bei denen die gefundenen Werte ausgezeichnet mit der Theorie übereinstimmen. Aber sie heben auch die mannigfachen Bedingungen hervor, die erfüllt sein müssen, um diese Übereinstimmung zu erzielen. So treffen wohl Waentig und Steche[1]) das Richtige mit der Annahme, daß die Abweichungen von den nach der Theorie zu erwartenden Werten gar nicht nur von direkt herstellbaren Versuchsbedingungen, also von der geeigneten Konzentration des Wasserstoffsuperoxyds und des Fermentes, sowie von der Temperatur abhängen, sondern daß sich während der Reaktion neue störende Bedingungen, die den Verlauf beeinflussen, einstellen. Dabei denken die Autoren an Adsorption des Wasserstoffsuperoxyds an das Ferment, wodurch die Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigt wird, und an Adsorption des abgespaltenen Sauerstoffs ebenfalls an das Ferment, wodurch der Verlauf der Spaltung verlangsamt wird. Zu einem Verlauf, der genau der Theorie entspricht, soll es danach nur kommen, wenn sich der beschleunigende und der verzögernde Einfluß gerade das Gleichgewicht hält.

Ich habe nun auch bei meiner Bakterienkatalase sehr häufig die Reaktionsgeschwindigkeit gemessen, und zwar bei verschiedenen Temperaturen, Verdünnungen und namentlich auch bei verschiedenen Isolierungsstadien des Fermentes. Ganz wie die Autoren bei den von ihnen untersuchten Katalasen fand ich auch sehr häufig, daß zunächst die Reaktionsgeschwindigkeit entweder konstant blieb oder etwas anstieg, dann aber mehr oder weniger schnell sich verlangsamte, so daß K immer kleiner wurde. In einer Reihe von Versuchen wurde aber auch eine befriedigende Konstanz von K gefunden. Ich gebe einige Beispiele für beide Typen.

Die Protokolle sind ohne viele Erklärungen verständlich.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 76 u. 79 und Fermentforschung 1.

Titriert wurden immer 50 ccm. $C_{H_2O_2}$ bedeutet die an dem betreffenden Zeitpunkt vorgefundene Konzentration an H_2O_2, ausgedrückt in Kubikzentimetern von $^1/_{10}$-n-Kaliumpermanganat, als k ist der Wert von $\frac{\log a - \log x}{\vartheta}$ bezeichnet, wobei a die Anfangskonzentration, x die Konzentration in dem betreffenden Zeitpunkt, ϑ die Zeit in Minuten bedeutet.

A. Beispiele mit befriedigender oder mäßig befriedigender Konstanz von K.

1. Temperatur 0° — H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,3	
5	7,7	164
10	6,2	176
15	5,1	174
20	4,2	173
25	3,6	165
30	3,0	164
35	2,5	163

2. Temp. 0° — H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,7	
5	7,8	171,3
10	6,5	165,8
20	4,4	167,1

3. Temp. 0° — H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,7	
5	6,4	343,1
10	4,2	354,5
20	1,8	361,1

4. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung. In je 100 ccm Gesamtflüssigkeit wird 1,25 ccm Fermentlösung und — aus später zu besprechenden Gründen — 1 ccm Bouillon getan.

Temperatur 0° — H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0		
5	7,7	209,5
10	6,1	205,9
20	3,7	211,5

5. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0°	—	H_2O_2 ca. 1/100 normal
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,3	
5	9,1	107,6
10	7,9	115,2
20	6,4	103,3

6. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0°	—	H_2O_2 ca. 1/100 normal
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,3	
5	8,2	198,1
10	6,6	193,3
20	4,3	189,7

B. Beispiele mit steigenden und besonders mit fallenden Werten von *k*.

1. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0°	—	H_2O_2 ca. 1/100 normal
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,5	
5	9,1	37,3
10	8,5	48,3
15	8,0	49,8
20	7,9	40,0
25	7,4	43,0
30	7,3	38,1
35	7,0	37,9
40	6,9	34,7
45	6,7	33,7

2. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temper. ca. 18°	—	H_2O_2 ca. 1/60 normal
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	18,4	
5	10,4	495,6
10	6,0	486,7
15	3,5	480,0
20	2,2	461,2
25	1,3	460,4
30	0,9	436,9
35	0,6	424,8

3. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0° Minuten	— $C_{H_2O_2}$	H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal $K \cdot 10^4$
0	9,2	
10	7,7	77,3
15	7,2	70,9
20	6,7	68,9
25	6,3	65,8
30	6,0	61,9
35	5,7	59,4
50	4,9	54,7
80	3,6	52,2

4. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0° Minuten	— $C_{H_2O_2}$	H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal $K \cdot 10^4$
0	9,3	
5	8,7	57,9
10	8,2	54,7
15	7,8	50,9
20	7,5	46,7
25	7,1	46,9
30	6,8	45,3
35	6,6	42,5
40	6,3	42,3
45	6,2	38,9

5. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur 0° Minuten	— $C_{H_2O_2}$	H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal $K \cdot 10^4$
0	10,3	
5	4,5	719,3
10	2,1	690,9
20	0,7	661,1

Die herausgegriffenen Beispiele zeigen zur Genüge, daß man auch, wie die Protokolle der Gruppe A lehren, bei unserer Bakterienkatalase und auch speziell beim einigermaßen isolierten Ferment einen Reaktionsverlauf erhalten kann, der dem für Reaktionen erster Ordnung gut folgt. Selbstverständlich muß man, um dieses Resultat zu erzielen, auf geeignete Versuchsbedingungen wie hinreichende Verdünnung des Wasserstoffsuperoxyds, genügende Konzentration des Fermentes und niedrige Versuchstemperatur Rücksicht nehmen.

Aber auch dann ist bei der Bakterienkatalase dieser nor-

male Verlauf der Reaktion nicht regelmäßig zu erreichen. Namentlich besteht eine ausgesprochene Tendenz für allmähliche Abnahme der Geschwindigkeit. Es ist hier, wo wir auf diese Fragen nur zur Charakterisierung unserer Katalase eingehen, nicht der Platz, die Gründe für die Abnormitäten des Verlaufes zu erörtern. Es sei auf die Ausführungen von Wäntig und Steche[1]) und von Höber[2]) verwiesen.

Die strenge Innehaltung der optimalen Reaktion ist auch nicht entscheidend. Bekanntlich haben, wie besonders Sörensen[3]) gezeigt hat, die Katalasen in der Gegend des Neutralpunktes ($p_{H=7}$) ihr Optimum. Wie ich mich durch eigene Beobachtungen, über die weiter unten berichtet wird, überzeugt habe, gilt das auch für meine Bakterienkatalase. Aber auch als ich durch Anwendung von Puffern Schädigungen durch Reaktionsschwankungen verhinderte, erzielte ich keine Konstanz der Geschwindigkeit.

Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Die Versuchsflüssigkeit wird so aus den Sörensenschen Phosphatlösungen zusammengesetzt, daß auf 6,5 ccm sek. Phosphat 3,5 ccm prim. Phosphat kommen.

Temperatur 0^0 Minuten	— $C_{H_2O_2}$	H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal $K \cdot 10^4$
0	9,6	
5	9,1	46,5
10	8,5	52,8
15	8,1	49,2
20	7,6	50,7
25	7,2	49,9
30	6,9	47,8
35	6,7	44,7
40	6,4	44,0
45	6,1	43,8

Dagegen hatte ich den Eindruck, daß ein anderes Moment von Bedeutung ist. Die gereinigten Fermentlösungen, die ich benutzte, sind sehr arm an Salzen und anderen Bestandteilen, sie enthalten auch nur wenig Kolloide. Ich kam daher auf den Gedanken, durch Zufügung geeigneter Stoffe diese Substanz-

[1]) l. c.

[2]) Physikalische Chemie der Zelle, 4. Aufl., 1914.

[3]) Diese Zeitschr. 21.

armut zu beseitigen und durch Herstellung eines geeigneten Milieus den Reaktionsverlauf zu beeinflussen. Ich wählte Nährbouillon und hatte den Eindruck, damit das Richtige getroffen zu haben.

1. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Es werden zwei Vergleichsflüssigkeiten hergestellt, die sich dadurch unterscheiden, daß in II auf 100 ccm je 1 ccm alkalische Bouillon kommt.

Temperatur 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

I. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	II. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,8		0	9,8	
5	8,5	123,6	5	7,7	209,5
10	7,6	110,4	10	6,1	205,9
20	6,5	89,2	20	3,7	211,5

2. Schwächere Fermentlösung.

Bei II kommt auf 100 ccm nur je 0,5 ccm der Bouillon.

Temperatur 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

I. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	II. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	10,0		0	10,0	
5	9,2	72,4	5	9,4	53,7
10	8,8	55,2	10	8,6	65,5
20	8,1	45,8	20	7,5	62,5

3. Bei II kommt auf 100 ccm je 1 ccm der Bouillon.

Temperatur 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

I. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	II. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	9,9		0	9,9	
5	9,6	26,7	5	9,3	54,3
10	8,2	81,8	10	8,5	66,2
20	7,0	75,3	20	7,0	75,3

4. Stärkere Fermentlösung, bei II je 1 ccm Bouillon auf 100 ccm.

Temperatur 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

I. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	II. Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	11,2		0	11,2	
5	8,6	229,4	5	8,2	270,8
10	7,0	204,1	10	6,1	263,9
20	4,7	188,9	20	3,6	246,5

Diese Versuche bieten gewiß noch kein befriedigendes Resultat. Jedoch wäre ihre Weiterführung lohnend. Denn es ist doch ganz unverkennbar, daß — abgesehen von der Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit, die wohl durch die alkalische

Reaktion der Bouillon bedingt ist, auch der Verlauf ein mehr gleichmäßiger wird. Vielleicht gelingt es bei Fortsetzung der Versuche, den wesentlichen Faktor herauszufinden.

Ebenso wie die Wirkung der Bakterienkatalase zwar im Prinzip dem Gesetze der Reaktionen erster Ordnung folgt, die Geschwindigkeit aber mannigfaltig durch Nebenfaktoren beeinflußt wird, so lehren auch Versuche über die Beziehung der Fermentkonzentration zur Reaktionsgeschwindigkeit, daß auch hier das Prinzip das zu erwartende einfache ist, daß aber vielfache Abweichungen unvermeidbar sind. Ich gebe zunächst Versuche wieder.

1. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temperatur ca. 18°. H_2O_2 0,074 normal

Fermentmenge:	1	2
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
10	82,0	216,8
20	69,1	215,9

2. Temperatur 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Fermentmenge:	1	2	4
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
5	171,3	343,1	629,9
10	165,8	354,5	635,3
20	167,1	361,2	599,8

3. Temp. 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Fermentmenge:	1	2	4	8
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
5	112,6	170,3	313,6	576,1
10	92,5	163,2	296,7	564,2
20	81,6	148,3	290,2	546,3

4. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temp. 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Fermentmenge:	1	2	4	8
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
5	82,6	196,0	420,8	854,9
10	76,6	182,7	372,4	740,4
20	66,2	152,7	317,1	627,6

5. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temp. 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Fermentmenge:	1	2	4	8
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
5			63,0	101,2
10	13,2	36,2	65,5	113,5
20	13,4	30,2	56,8	125,9

6. Mit Ammonsulfat isolierte Fermentlösung.

Temp. 0° H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal

Fermentmenge:	1	2	4	8
Minuten	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$	$K \cdot 10^4$
5	107,6	198,1	427,0	719,3
10	115,2	193,3	456,5	690,9
20	103,3	189,7	418,4	661,1

Aus den Versuchen kann man nur entnehmen, daß wohl im Grunde für die Reaktion gilt, daß der Quotient

$$\frac{K}{C}\left(\frac{\text{Reaktionskonstante}}{\text{Fermentkonzentration}}\right)$$

für die verschiedenen Konzentrationen identisch ist. Aber die Abweichungen sind so unverkennbar, daß im einzelnen die einfache Beziehung nicht erreicht wird. Es hat daher auch keinen Zweck, Berechnungen zu geben. Es ist klar, daß durch die Einflüsse, welche die Abweichungen von dem gleichmäßigen Verhalten der Reaktionsgeschwindigkeit bedingen, auch das Verhältnis zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Fermentkonzentration beeinflußt werden muß. Daher verzichte ich auch darauf, noch etwas anders angeordnete Versuche über diese Beziehung wiederzugeben, da sie ebenso wie die oben geschilderten Versuche nur eine Annäherung, aber keine gesetzmäßige Beziehung zeigen.

Endlich seien noch einige Versuche über den Einfluß der Reaktion auf die Katalasewirkung ausgeführt. Sie reichen jedenfalls aus, um zu beweisen, daß schon mäßige Verschiebungen vom Neutralpunkt nach der saueren Seite hin eine Schwächung der Wirkung verursachen. Nach der Wirkungsverstärkung, die auf Grund von Analogien wahrscheinlich durch eine bestimmte Alkalescenz zu erwarten ist, habe ich nicht gefahndet. Die Abschwächung durch Säure habe ich außer in den mitgeteilten Versuchen auch sonst noch häufig gefunden.

1. Temperatur 0°. H_2O_2 ca. $^1/_{100}$ normal.

Die angegebenen Reaktionen werden hergestellt, indem das Wasser durch entsprechende Sörensensche Phosphatgemische ersetzt wird.

p_H:	8,3		7,0			4,5		
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	12,8		0	12,8		0	12,8	
30	7,4	79,3	30	7,2	83,1	30	10,4	30,1
120	1,7	73,1	120	1,5	77,5	120	6,9	22,4

2. Temperatur ca. 18°. H_2O_2 $^1/_{34}$ normal.

p_H:	8,3		7,0			4,5		
Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$	Minuten	$C_{H_2O_2}$	$K \cdot 10^4$
0	10,0		0	10,0		0	10,0	
30	5,1	97,5	30	4,6	112,4	30	7,4	43,6
60	1,7	128,3	60	1,0	166,7	60	5,0	46,0
120	0,9	87,1				120	0,7	96,2

Da die Prüfung der in dieser Mitteilung studierten Gesetzmäßigkeiten nicht Endzweck ist, sondern nur ein Hilfsmittel, das für weitere Isolierungsversuche ein Kriterium schaffen soll, so begnüge ich mich mit diesen Angaben. Jedenfalls zeigt sich, daß das Agens, das sich in unseren Kulturen aus bekannten und begrenzten Substanzen in beliebiger Menge bildet und sich daraus allmählich immer reiner isolieren läßt, eine echte Katalase ist, die sich in ihren Gesetzmäßigkeiten durchaus an die früher untersuchten Katalasen anschließt.

Untersuchungen über Diffusionsvorgänge in Gallerten.
II. Über die Abhängigkeit des Diffusionsvermögens von der Ionenbeweglichkeit sowie von der Hydratation und Polymerisation der Moleküle.

Von

Otto von Fürth und Franz Bubanović.

(Eingegangen am 17. Juli 1918.)

I.

Einleitung.

In einer früheren Untersuchung[1]) hatten wir uns mit der Frage beschäftigt, in welcher Weise der Diffusionsweg eines in eine Gallerte hineindiffundierenden Elektrolyten von der Konzentration desselben abhängig ist und gezeigt, daß dieser Zusammenhang durch die Relation $d = m\, t^{1/2} k^n$ gegeben erscheint, wo d den Diffusionsweg, t die Zeit, k die molekulare Konzentration ausdrückt und m und n die Bedeutung von Konstanten besitzen.

Nachdem nun diese Vorfrage erledigt und die strenge Gesetzmäßigkeit der Diffusionsvorgänge in Gallerten ausreichend dargetan war, konnten wir uns die Frage vorlegen, von welchen physikalisch-chemischen Faktoren der Diffusionsweg verschiedener Elektrolyte, die in eine Gallerte hineindiffundieren, in erster Linie beeinflußt wird.

Nernst[2]) hat bekanntlich für eine Anzahl weitgehend dissoziierter binärer Elektrolyte dargetan, daß (wenn man molekulares Leitvermögen, Ionenbeweglichkeit, Diffusionskoeffizienten

---

[1]) O. v. Fürth u. F. Bubanović, diese Zeitschr. **90**, 266, 1918.

[2]) W. Nernst, Theoretische Chemie **1893**, 313.

und Gaskonstante nach einem konsequent durchgeführten Maßsystem mißt) einfach $\lambda = u + v$ und

$$\frac{1}{D} = \left(\frac{1}{u} + \frac{1}{v}\right) \frac{1}{RT} \quad \text{oder} \quad D = RT \frac{u\,v}{u + v}.$$

„Während also das molekulare Leitungsvermögen einfach die Summe der Ionenbeweglichkeiten beträgt, ist der reziproke Wert des Diffusionskoeffizienten proportional der Summe der reziproken Werte der Beweglichkeiten."

Würde nun das Diffusionsvermögen tatsächlich immer und unter allen Umständen ausschließlich eine Funktion der Ionenbeweglichkeiten sein, so müßte der Ausdruck $\frac{u\,v}{u + v}$ (wir werden denselben im folgenden als „Nernstschen Diffusionsfaktor" bezeichnen) die einfache Bedeutung eines Proportionalitätsfaktors für das Diffusionsvermögen besitzen. Wenn wir also das Verhältnis der Diffusionskoeffizienten zweier Elektrolyte feststellen wollten, sollte es genügen, die Relation auf Grund der Kohlrauschschen Zahlen für die Ionenbeweglichkeiten[1]) für die betreffenden Elektrolyten zu berechnen. Wäre der absolute Wert des Diffusionskoeffizienten für einen Elektrolyten genau festgestellt, so sollte es möglich sein, die Diffusionskoeffizienten für alle anderen Elektrolyte (insoweit die Beweglichkeiten der zugehörigen Ionen bekannt sind) im voraus zu berechnen.

Tatsächlich ist dies ganz und gar nicht der Fall. Bereits in der ersten Abhandlung (S. 269) war, abgesehen von der Beeinflussung der Diffusion durch die Konzentration als solche, von einer Reihe anderer physikalisch-chemischer Faktoren die Rede, die das Diffusionsvermögen mitbeeinflussen, so insbesondere vom Dissoziationsgrade, der Temperatur, vom Anziehungsvermögen, mit dem die gelösten Teilchen einerseits untereinander, andererseits vom Lösungsmittel festgehalten werden, sowie von der Änderung, welche die Reibung der Ionen mit der Konzentration erfährt (Arrhenius, Wiedeburg a. A.). Und wenn schon bei den Vorgängen der Diffusion in Lösungen

[1]) Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen, 4. Auflage, S. 1124, 1912.

sicherlich außer diesen bekannten Faktoren noch eine Anzahl unbekannter mitspielen, gilt dies zweifellos in noch höherem Maße von den Diffusionsvorgängen in Gallerten, wo die physikalische und chemische Veränderung der die Gallerte zusammensetzenden Kolloide durch die in dieselbe eindringenden Elektrolyte schwer ins Gewicht fällt und insbesondere die Viscosität des Mediums, sowie die gegenseitige Anziehung zwischen Elektrolyt-, Wasser- und Kolloidteilchen bedeutungsvoll erscheint.

Wir können also nicht daran zweifeln, daß die Diffusion in Gallerten ein recht komplizierter Vorgang ist. Gegenstand vorliegender Abhandlung soll es zunächst sein, die Diffusionsvorgänge für eine Reihe von Elektrolyten in bezug auf Gallerten einerseits und Wasser andererseits miteinander zu vergleichen und uns darüber klar zu werden, welche Faktoren (unter den zahlreichen in Betracht kommenden) in erster Linie für die beobachteten Abweichungen von dem für den Grenzfall des idealen Zustandes gültigen Nernstschen Diffusionsgesetze verantwortlich gemacht werden müssen.

Aus später auseinanderzusetzenden Gründen werden wir uns außer mit den Beziehungen des Dissoziationsgrades vor allem mit der Hydratation und Polymerisation der diffundierenden Moleküle befassen müssen, über die insbesondere auch die neueren Untersuchungen von H. C. Jones und seinen Mitarbeitern wichtige Aufschlüsse ergeben haben. Es ist wohl von vornherein einleuchtend, daß es für die Beweglichkeit der sich innerhalb einer Lösung befindlichen kleinsten Teilchen von größter Bedeutung sein muß, wenn ihr Volumen und somit auch ihr Reibungswiderstand, sei es durch Polymerisation, sei es durch Anlagerung von zahlreichen Wassermolekülen, die das Teilchen bei seinen Ortsveränderungen mitschleppen muß, erheblich vermehrt wird.

II.

Der Invasionsfaktor.

Wir legten uns nun zunächst die Frage vor, ob und inwieweit das Nernstsche Diffusionsgesetz $D = RT\frac{uv}{u+v}$ bei

Beobachtung des Diffusionsweges einer Anzahl von Elektrolyten in einer Gallerte zum Ausdrucke gelangt.

Wir ließen zu diesem Zwecke $^1/_5$ normale Lösungen von NaCl, NaBr, NaJ, KCl, KBr, KJ, NaF in eine $5\,^0/_0$ige silbernitrathaltige Gallerte 5 Tage lang hineindiffundieren und beobachteten das Fortschreiten der Niederschlagszone von Halogensilber. Das Fortschreiten des Fluornatriums innerhalb der Gallerte gab sich durch eine zarte (durch den Calciumgehalt der Gelatine bedingte) Trübung zu erkennen. Der Diffusionsweg wurde in Millimetern gemessen.

Tage	NaCl $^n/_5$	NaBr $^n/_5$	NaJ $^n/_5$	KCl $^n/_5$	KBr $^n/_5$	KJ $^n/_5$	NaF $^n/_5$
$t = 1$ $d/\sqrt{t} =$	25,0	24,5	24,5	27,0	27,0	27,0	22,7 mm
$t = 2$	27,4	23,9	24,5	26,6	26,4	26,4	22,4 „
$t = 3$	24,8	24,1	24,3	26,3	26,7	26,4	21,4 „
$t = 5$	24,4	23,5	23,5	25,8	26,4	26,6	21,3 „
Mittel = (Diffusionsweg i. 1 Tag)	25,4	24,0	24,2	26,6	26,6	26,6	21,9 mm

Die Nernstschen Diffusionsfaktoren betragen:

für	NaCl	NaBr	NaJ	KCl	KBr	KJ	NaF
	26,2	26,5	26,2	32,5	33,2	32,6	21,9

Wir berechnen nun, von dem mittleren Diffusionswege ausgehend, welches das NaCl in einem Tage zurückgelegt hat (25,4 mm), wie groß die Diffusionswege der anderen Salze sein müßten, wenn die Diffusionswege proportional dem Nernstschen Faktor wären.

Also z. B. $d_{KJ} : 25{,}4 = 32{,}6 : 26{,}2$

Es ergibt sich so:

	gefunden	berechnet
NaCl	25,4 mm	— mm
NaBr	24,0 „	24,7 „
NaJ	24,2 „	25,4 „
KCl	26,6 „	31,5 „
KBr	26,6 „	32,2 „
KJ	26,6 „	31,6 „
NaF	21,9 „	21,2 „

Während NaBr, NaJ und NaF der theoretischen Forderung entsprechend sich verhalten haben, diffundierten die drei untersuchten Kalisalze um sehr vieles langsamer als der Erwartung entsprochen hätte.

Oder ein anderes Beispiel:

Wir ließen (Abh. I, Versuch 4) NaCl, KCl, NH_4Cl, LiCl und HCl, und zwar jeden Elektrolyten in $^n/_1$-, $^n|_3|_4$-, $^n/_2$- und $^n/_4$-Lösungen in silbernitrathaltigen $2\,^0/_0$igen Agaragar hineindiffundieren und beobachteten die Diffusionswege nach 1, 2 und 3 Tagen.

Für den Zusammenhang zwischen Diffusionsweg, Zeit und Konzentration ergaben sich die Gleichungen:

für NaCl	$d = 41{,}96$	$t^{1/2}$	$K^{0,12}$
„ KCl	$d = 45{,}15$	$t^{1/2}$	$K^{0,12}$
„ NH_4Cl	$d = 45{,}15$	$t^{1/2}$	$K^{0,12}$
„ LiCl	$d = 39{,}08$	$t^{1/2}$	$K^{0,12}$
„ HCl	$d = 54{,}53$	$t^{1/2}$	$K^{0,12}$

Der mittlere Diffusionsweg m (in Millimetern gemessen), der für $K = 1$, also in $^1/_1$ molekularer Lösung in der Zeit $t = 1$ zurückgelegt wurde, betrug sonach für NaCl 41,96, KCl 45,15, NH_4Cl 45,15, LiCl 39,08, HCl 54,33 mm. Die Nernstschen Diffusionsfaktoren $N = \frac{uv}{u+v}$, aus den Zahlen von Kohlrausch berechnet, betragen für NaCl 26,2, KCl 32,5, NH_4Cl 32,5, LiCl 22,1, HCl 53,5.

Legt man nun den Diffusionsweg des Kochsalzes 41,96 zugrunde und berechnet, wie groß die Diffusionswege der anderen Elektrolyten zu gleicher Zeit, bei gleicher molekularer Konzentration, innerhalb derselben Gallerte sein müßten, wenn die Diffusionsgeschwindigkeit einfach dem Nernstschen Faktor proportional vor sich ginge, so ergibt sich:

	gefunden	berechnet
NaCl	41,96 mm	— mm
KCl	45,15 „	53,1 „
NH_4Cl	45,15 „	53,1 „
LiCl	39,08 „	35,4 „
HCl	54,33 „	85,8 „

Es ergibt sich, daß das Kalium- und Ammoniumsalz langsamer, das Lithiumsalz schneller in die Gallerte eingedrungen ist, als der Theorie entspricht. Ganz gewaltig ist jedoch die Abweichung für die Salzsäure, die innerhalb der Gallerte nur $^2/_3$ des erwarteten Weges zurückgelegt hat.

Aus derartigen Beispielen, deren Zahl beliebig vermehrt werden könnte, ergibt sich sonach, daß das Eindringen von Elektrolyten in eine Gallerte nicht etwa derart erfolgt, daß die Geschwindigkeit derselben ausschließlich aus den Ionenbeweglichkeiten (wie sie sich aus den Überführungszahlen ergeben) abgeleitet und im Sinne der Nernstschen Diffusionsgleichung vorausberechnet werden könnte.

Es hat sich uns nun darum gehandelt, für die Geschwindigkeit, mit der ein Elektrolyt in eine Gallerte eindringt, einen brauchbaren Maßstab zu gewinnen, der es uns gestattet, die bei verschiedenen Gallerten unter verschiedenen Versuchsbedingungen und für verschiedene Elektrolyte gewonnenen Resultate untereinander unmittelbar in Beziehung zu bringen.

In der 1. Abhandlung (S. 283) wurde auseinandergesetzt, daß (soweit unsere bisherigen Erfahrungen reichen und zumindestens für Elektrolyte mit typischem Verhalten bei der Diffusion) die Konstante n in der Diffusionsgleichung $d = mt^{1/2} k^n$ für ein und dieselbe Gallerte auch für verschiedene Elektrolyte dieselbe ist.

Wenn wir also irgendeinen Elektrolyten einerseits, Kochsalz andererseits als Lösungen von gleicher molekularer Konzentration k in ein und dieselbe Gallerte hineindiffundieren lassen und die beiden Diffusionswege nach einem gleichen, jedoch beliebigen Zeitabschnitte t beobachten, so ergibt sich für das Verhältnis dieser Diffusionswege:

$$\frac{d_\varepsilon}{d_{\text{NaCl}}} = \frac{m_\varepsilon t^{1/2} k^n}{m_{\text{NaCl}} t^{1/2} k^n} = \frac{m_\varepsilon}{m_{\text{NaCl}}} = \text{konst.} = J.$$

Wir wählen nun diese Konstante J als Maßstab für die Diffusionsgeschwindigkeit eines Elektrolyten innerhalb einer Gallerte und schlagen für dieselbe die Bezeichnung „Invasionsfaktor" vor.

Wir definieren sonach den Invasionsfaktor $\frac{d_\varepsilon}{d_{\text{NaCl}}} = J_\varepsilon$ als Verhältnis der Diffusionswege, die ein Elektrolyt einerseits, eine Kochsalzlösung andererseits bei gleicher molekularer Konzentration und gleicher Temperatur innerhalb eines gleichen Zeitabschnittes beim Hineindiffundieren in ein und dieselbe Gallerte zurücklegen. (Wir berechnen der Einfachheit halber, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes bemerkt wird, gewöhnlich den Invasionsfaktor aus den Diffusionswegen $^1/_1$ molekularer Lösungen.)

Es ergab sich also in den vorerwähnten Versuchen a) bei Diffusion von $^n/_5$-NaCl und $^n/_5$-KCl in 5%iger Gelatine

$$\frac{d_{\text{KCl}}}{d_{\text{NaCl}}} = \frac{26{,}6}{25{,}4} = 1{,}05\,,$$

b) bei Diffusion von NaCl und KCl in Form $^n/_1$-, $^n/_4$-, $^n/_2$- und $^n/_4$-Lösungen in 2%iger Agaragar als Mittelwert aller Beobachtungen

$$\frac{d_{\text{KCl}}}{d_{\text{NaCl}}} = \frac{45{,}15}{41{,}96} = 1{,}07\,.$$

Sonach ergibt als „Invasionsfaktor" des Kaliumchlorid

$$J_{\text{KCl}} = \left.\begin{matrix}1{,}05\\1{,}07\end{matrix}\right\}\text{Mittel} = 1{,}06\,.$$

Wir haben das Kochsalz als Standard für unsere Versuche gewählt, weil es bei seiner Diffusion (da es weder stark hydratisiert ist, noch eine Neigung zur Polymerisation zeigt) ein durchaus typisches und normales Verhalten aufweist. Bereits Th. Graham hat gezeigt, daß die NaCl-Menge, die aus einer 10 % NaCl enthaltenden 2 %igen Agarlösung in reine Agarlösung im Laufe von 14 Tagen hineindiffundiert, genau so groß ist wie die bei normaler Diffusion in reinem Wasser diffundierende Kochsalzmenge. Voigtländer (1889) fand den Diffusionskoeffizienten für NaCl in Agargallerte 1 % = 1,04, 2 % = 1,03, 3 % = 1,03, während der Diffusionskoeffizient in wäßriger Lösung bei Zimmertemperatur mit 0,97 bis 1,05 berechnet wird. Zu analogen Resultaten ist auch G. Hüfner (1898) gelangt. Infolge irrtümlicher Übertragung dieser Beobachtungen findet sich vielfach in der biologischen Literatur die Meinung vertreten, daß die Diffusion in kolloiden Medien ganz allgemein ebenso schnell und unbehindert stattfinde wie in Wasser. Tatsächlich wissen wir aber, daß die Diffusionsgeschwindigkeit von allen Zustandsänderungen der Kolloide weitgehend beeinflußt wird und unter Umständen auf einen Bruchteil der freien Bewegungsgröße absinken kann[1]).

Oeholm[2]) im Laboratorium von Arrhenius hat aus Beobachtungen am Kaliumchlorid bei Diffusion in Gallerten von verschiedener Konzentration erschlossen, daß die Gelatine nur die Wanderungsgeschwindigkeit, nicht aber den Dissoziationsgrad des Elektrolyten ändert.

Um etwaigen Mißverständnissen vorzubeugen, möchten wir es nicht unterlassen, ausdrücklich zu bemerken, daß der Invasionsfaktor nicht etwa in der Weise ermittelt werden kann, daß man ein Gemenge des betreffenden Elektrolyten und einer äquimolekularen Kochsalzlösung in eine Gallerte hineindiffundieren läßt. Ein solcher Vorgang wäre ganz unzulässig, da wir wissen, daß Diffusionsweg und Diffusionskoeffizient eines Elektrolyten durch die Gegenwart anderer Substanzen in der Lösung unter Umständen stark beeinflußt werden. Das Postulat gleichartiger

[1]) Vgl. die einschlägige Literatur bei W. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie, 2. Aufl., Verlag Steinkopf, 1911, S. 263ff., sowie bei H. Bechhold, die Kolloide in Biologie und Medizin, Verl. Steinkopf, 1912, S. 49 bis 50.

[2]) L. W. Oeholm, Mitteil. des Nobel-Institutes 2, Nr. 30, 1913. Chem. Centralbl. 1913, 2, 1648.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8 a	8 b	9	10
Bezeichnung des Elektrolyten	Auf 18° und $^m/_1$-Lösungen bezogener Diffusionskoeffizient D in wäßriger Lösung	Literaturangabe	Invasionsfaktor $\frac{d_{Elektrolyt}}{d_{NaCl}}$ bei Diffusion in Gallerten (Fürth u. Bubanovic)	Theoretischer Invasionsfaktor $\frac{N_{Elektrolyt}}{N_{NaCl}}$	Nernstscher Faktor der Ionenbeweglichkeit $N = \frac{uv}{u+v}$	Dissoziationsgrad einer molekularen Lösung	Hydratationsgrad nach Ionen	Zahl der angelagerten H_2O-Moleküle pro Molekül in $^m/_1$-Lösung	Relat. Molekularradius $1/D$ nach Einstein (bezogen auf Kochsalz als Einheit)	Relat. Molekularvolumen $(1/D)^3$ (bezogen auf NaCl als Einheit)
HCl	2,20 2,30 } 2,25	Öholm 18° Nernst-Scheffer	1,30 1,21 } 1,25	2,04	53,5	0,79	schwache Hydr.	9,4	0,44	0,085
HNO_3	2,17 2,22 } 2,20	Thovert 19,5° Nernst-Scheffer	1,17	1,96	51,6	0,85	desgl.	3,8	0,45	0,091
NH_3	1,63	Arrhenius 12° Hagenbach 17°	1,07 1,05 } 1,06	1,76	46,4	*0,013	desgl.	5,9	0,61	0,23
KOH	1,33 1,85 } 1,59	Öholm 18° Nernst-Scheffer	1,22	1,79	47,0	0,76	desgl.	6,9	0,63	0,25
KBr	1,43 *1,35 } 1,39	Schuhmeister 10° Lang	1,07 1,05 } 1,06	1,27	33,2	*0,76	s. geringe Hydr.	0	0,72	0,37
KJ	1,37 *1,37 } 1,37	Öholm 18° Lang	1,11 1,05 } 1,08	1,25	32,6	*0,80	desgl.	0	0,73	0,39
NaOH	1,29 1,40 } 1,35	Öholm 18° Öholm 15°	1,11	1,32	34,7	0,64	schwache Hydr.	6,8	0,74	0,41
KCl	1,33 *1,33 } 1,33	Öholm 18° Lang	1,07 1,05 } 1,06	1,24	32,5	*0,76	s. geringe Hydr.	0	0,75	0,42
H_2SO_4	1,33 1,33 } 1,33	Arrhenius 12° Thovert 18°	0,98	2,13	55,9	0,51	schwache Hydr.	3,9	0,75	0,42
$(NH_4)Cl$	1,33 *1,17 } 1,20	Nernst-Scheffer Lang	1,07	1,24	32,5	*0,75	s. geringe Hydr.	0	0,33	0,57

KNO_3	1,16 **1,10	1,13	Thovert Hedin	18°	—	1,20	31,6	0,64	s. geringe Hydr.		0,89	0,71
H . COOH		1,13	Arrhenius	12°	0,86	1,56	40,9	**0,014	Polymerisation?		0,89	0,71
NaJ		1,01	Schuhmeister	10°	1,05	1,00	26,2	0,77	schwache Hydr.	5,0	1,00	1,00
NaCl		1,00	Thovert	15°	1,00	1,00	26,2	*0,68	s. geringe Hydr.	0	1,00	1,00
$NaBr . 2 H_2O$	1,01 0,98	1,00	Schuhmeister Hedin	10°	1,06	1,01	26,5	0,75	schwache Hydr.	5,4	1,00	1,00
$LiCl . 2 H_2O$		0,92	Öholm	18°	0,93	0,85	22,1	*0,64	starke Hydr.		1,09	1,30
$LiBr . 2 H_2O$	0,90 **0,90	0,90	Schuhmeister Hedin	10°	—	0,86	22,4	0,70	desgl.	13,0	1,11	1,37
$(COOH)_2 . 2 H_2O$		0,84	Arrhenius	12°	1,10	2,00	52,5	*0,25	keine Hydr., jedoch Polymer.		1,19	1,68
$CH_3 . COOH$		0,84	Öholm	18°	0,75	1,17	30,8	*0,012	desgl.		1,19	1,68
$CaCl_2 . 6 H_2O$	0,93 *0,70	0,81	Scheffer Lang	9°	0,94	1,13	29,4	0,52	starke Hydr.	22,8	1,23	1,86
$BaCl_2 . 2 H_2O$	0,91 **0,86 *0,65	0,80	Scheffer Hedin Lang		1,00	1,16	30,2	0,60	desgl.		1,25	1,95
$(NH_4)_2SO_4$	*0,73 **0,80	0,76	Lang Hedin		0,67	1,27	33,3	—	Polymerisation		1,32	2,30
K_2SO_4		0,74	Thovert	19,6°	1,06	1,27	33,1	*0,56	desgl.		1,35	2,46
K_2CrO_4		*0,72	Lang		0,87	1,30	34,2	0,59	desgl.		1,39	2,68
$SrCl_2 . 6 H_2O$	*0,64 **0,79	0,72	Lang Hedin		0,93	1,08	28,5	*0,58	starke Hydr.		1,39	2,68
$Na_2SO_4 . 10 H_2O$	0,5–0,7 *0,80	0,70	Graham-Stefan 10° Schuhmeister 10° Lang		—	1,03	26,9	0,46	Polymerisation		1,43	2,92
$MgCl_2 . 6 H_2O$		*0,56	Lang		0,99	1,04	27,1	0,50	starke Hydr.	24,0	1,79	5,74
$CuCl_2 . 2 H_2O$		ca. 0,50	Schuhmeister	10°	1,02	1,03	26,9	0,45	desgl.	19,0	2,00	8,00
$MgSO_4 . 7 H_2O$	0,42 **0,57	0,50	Scheffer Hedin	10°	0,67	1,05	27,5	0,27	Polymerisation		2,00	8,00
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	0,42 *0,55	0,48	Thovert Lang	19,6	0,74	1,05	27,5	0,25	desgl.		2,08	9,00

Tabelle II.

	Effektiver Invasionsfaktor in Gallerte	Theoretischer Invasionsfaktor $\frac{N_{Elektrolyt}}{N_{NaCl}}$	Dissoziationsgrad einer $^{n}/_{1}$-Lösung	Diffusionskoeffizient in wäßriger Lösung
A. Säuren.				
HCl	1,25	2,04	0,79	2,25
HNO_3	1,13	1,96	0,85	1,96
$HClO_3$	1,13	1,78	—	—
Oxalsäure	1,10	2,00	0,25	0,84
H_2SO_4	0,98	2,13	0,51	1,33
Benzolsulfosäure	0,91	—	**0,36	—
Dichloressigsäure	0,90	—	**0,20	—
H_3PO_4	0,89	1,15	*0,17	—
Ameisensäure	0,86	1,56	**0,014	1,13
Trichloressigsäure	0,85	—	**0,42	—
Essigsäure	0,75	1,17	*0,012	0,84
B. Basen.				
KOH	1,22	1,79	0,76	1,59
NaOH	1,11	1,32	0,64	1,35
$Ba(OH)_2$	1,09	1,59	—	—
NH_3	1,06	1,76	*0,013	1,63
C. Salze mit schwacher Hydratation.				
KJ	1,08	1,25	*0,80	1,37
KCl	1,07	1,24	*0,76	1,33
NH_4Cl	1,07	1,24	*0,75	1,20
KBr	1,06	1,27	*0,76	1,39
$NaBr . 2 H_2O$	1,06	1,01	0,75	1,00
NaJ	1,05	1,00	0,77	1,01
NaCl	1,00	1,00	0,77	1,00
$CdCl_2 . 2 H_2O$	0,97	1,03	0,24	—
D. Salze mit starker Hydratation.				
$CuCl_2 . 2 H_2O$	1,02	1,03	0,45	ca. 0,50
$BaCl_2 . 2 H_2O$	1,00	1,16	0,60	0,80
$MgCl_2 . 6 H_2O$	0,99	1,04	0,50	0,56
$ZnCl_2 . 3 H_2O$	0,97	1,03	—	—
$NiCl_2 . 6 H_2O$	0,96	—	0,48	—
$CaCl_2 . 6 H_2O$	0,94	1,13	0,52	0,81
$SrCl_2 . 6 H_2O$	0,93	1,08	*0,58	0,72
$LiCl_2 . 2 H_2O$	0,93	0,85	*0,64	0,92
E. Stark polymerisierte Salze.				
K_2SO_4	1,06	1,27	*0,56	0,74
K_2CrO_4	0,87	1,30	0,59	0,72
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	0,74	1,05	0,25	0,48
$MgSO_4 . 7 H_2O$	0,67	1,05	0,27	0,50
$(NH_4)_2SO_4$	0,67	1,27	—	0,76

Gallerten werden wir vielmehr stets in der Weise praktisch erfüllen, daß wir die heiße verflüssigte Gallerte nach Zusatz der erforderlichen Reagenzien auf eine größere Zahl von Eprouvetten verteilen und darin erstarren lassen. In jedem der Röhrchen läßt man dann eine der zu prüfenden, nur einen Elektrolyten enthaltenden Lösungen diffundieren.

III.

Tabellarische Zusammenstellung der Beobachtungen.

Wir haben nun für zahlreiche Elektrolyte die Invasionsfaktoren teils durch Berechnung aus den in der 1. Abhandlung enthaltenen Versuchen, teils durch eigens zu diesem Zwecke angestellte Beobachtungen ermittelt. Um Weitschweifigkeiten zu vermeiden, begnügen wir uns jedoch damit, die Versuchsergebnisse in 2 Tabellen zusammenzufassen und die Invasionsfaktoren mit einer Reihe anderer uns hier interessierender physikalisch-chemischer Daten zusammenzustellen.

Was zunächst die Tabelle I betrifft, ist in Kolonne 1 die Bezeichnung des diffundierenden Elektrolyten enthalten. Kolonne 2 enthält die Diffusionskoeffizienten, für die Diffusion in wäßrigen Lösungen bezogen auf $^m/_1$-Lösungen und 18°. Die Mehrzahl der angeführten Daten sind den Landolt-Börnsteinschen Tabellen[1]) entnommen. (Die zugehörigen Literaturangaben finden sich inKolonne 3.) Soweit sich die in letzteren enthaltenen Daten nicht auf $^m/_1$-Lösungen beziehen, sind die Zahlen durch Interpolation gewonnen. Die Umrechnung auf die einheitliche Temperatur von 18° erfolgte nach der Formel $D_{18} = D_t[1 + 0{,}26(t - 18)]$ für Salze und $D_{18} = D_t[1 + 0{,}24(t - 18)]$ für Säuren und Basen.

Die mit einem Stern bezeichneten Zahlen sind aus den Versuchsdaten von Lang[2]) über die relative Zahl der ceteris paribus aus verschiedenen Salzlösungen in Wasser hineindiffundierenden Moleküle umgerechnet worden. Zur Korrektur dieser Zahlen wurden auch einige Beobachtungen von Marignac[3]) verwertet. Die mit zwei Sternen bezeichneten Werte in der Kolonne 2 sind aus einer Arbeit von Hedin[4]) über den Einfluß tierischer Membranen auf die Diffusion gewonnen, und zwar durch Umrechnung der mitgeteilten, auf Traubenzucker als Einheit bezogenen Werte auf Kochsalz als Einheit. Es wurden die Mittelwerte aus den Zahlen für freie Diffusion und Membrandiffusion in Rechnung gebracht.

---

[1]) l. c. S. 133 bis 136.

[2]) Lang, Wiedemanns Ann. 9, 613, 1880.

[3]) C. Marignac, Archives de Chimie et de Phys. 2 (5), 546, 1874.

[4]) S. G. Hedin, Arch. f. d. ges. Physiol. 78, 205, 1899.

Dank dem zufälligen Umstande, daß der Diffusionskoeffizient einer molekularen Kochsalzlösung bei 18° fast genau = 1 ist (nach Thoverts Zahlen umgerechnet), ergibt sich für uns die Bequemlichkeit, daß die Diffusionskoeffizienten unserer Kolonne 2 uns zugleich auch über das Verhältnis des Diffusionsvermögens unserer Elektrolyte zu demjenigen des Kochsalzes Auskunft geben, also unmittelbar zu den „Invasionsfaktoren" bei der Diffusion in Gallerten (Kolonne 4) in Analogie gesetzt werden können.

Die Elektrolyte sind in der Tabelle in der Reihenfolge abnehmender Diffusionskoeffizienten in wäßrigen Lösungen angeordnet.

Die Kolonne 4 enthält die von uns für die Diffusion in Gallerten ermittelten Invasionsfaktoren, insoweit sich dieselben auf Substanzen mit bekannten Diffusionskoeffizienten beziehen. Eine Reihe weiterer Invasionsfaktoren findet sich in Tabelle II.

Die nächste Kolonne 5 enthält die „theoretischen Invasionsfaktoren", d. h. jene Invasionsfaktoren, die sich ergeben würden, wenn der Diffusionsvorgang ausschließlich von der Ionenbeweglichkeit abhängig wäre. Man ermittelt dieselben, indem man den betreffenden (in der Kolonne 6 angeführten) Nernstschen Diffusionsfaktor $N_{\varepsilon} = \frac{uv}{u+v}$ durch den dem Kochsalz zugehörigen Nernstschen Faktor $N_{NaCl} = 26,2$ dividiert. So ergibt sich z. B. für HCl: $\frac{N_{HCl}}{N_{NaCl}} = \frac{53,5}{26,2} = 2,04$.

Die Nernstschen Diffusionsfaktoren der Kolonne 6 sind nach der Formel $N = \frac{uv}{u+v}$ auf Grund der Kohlrauschschen Zahlen für die Temperatur von 18° berechnet worden[1]).

Kolonne 7 unserer Tabelle gibt Auskunft über den Dissoziationsgrad einer $^{m}/_{1}$-Lösung des betreffenden Elektrolyten. Die Angaben dieser Kolonne sind größtenteils einer Mitteilung von Jones[2]) entnommen. Die mit einem Stern bezeichneten Zahlen sind aus den Landolt-Börnsteinschen Tabellen[3]) aus dem Äquivalentleitvermögen berechnet. Der Dissoziationsgrad einiger organischer Säuren wurde auf Grund ihrer Dissoziationskonstanten ermittelt. (Diese Zahlen sind in beiden Tabellen durch zwei Sterne kenntlich gemacht.)

Kolonne 8a charakterisiert auf Grund der Angaben von Jones (s. u.) den Hydratationsgrad der Verbindung; Kolonne 8b enthält, ebenfalls auf Grund der Beobachtungen des genannten Autors, die Angabe, mit wieviel Molekülen Wassers sich je ein Molekül des betreffenden Elektrolyten in $^{m}/_{1}$ wäßriger Lösung verbindet.

---

[1]) Landolt-Börnstein, l. c. S. 1124.

[2]) H. C. Jones, with the Assistance of F. H. Getmann, H. P. Basset, L. Mc Master and H. S. Uhler: Hydrates in Aquous solution. Washington. Published by the Carnegie Institution 1907.

[3]) Landolt-Börnstein, l. c. S. 1092ff.

Die Kolonne 9 enthält die reziproken Werte $\frac{1}{D}$ der Diffusionskoeffizienten. Für nicht dissoziierende Stoffe, deren Moleküle im Verhältnis zu denjenigen des Lösungsmittels groß sind, hat Einstein (1906) dargetan, daß (für ein Lösungsmittel von konstanter Viscosität) der reziproke Wert des Diffusionskoeffizienten proportional ist dem hydrodynamisch wirksamen Molekularradius. Wir haben also die reziproken Werte unserer Diffusionskoeffizienten unter der vorläufigen und unbewiesenen Annahme, daß eine ähnliche Beziehung vielleicht auch für die Elektrolytmoleküle gelten könnte, berechnet. Würde die Voraussetzung wirklich gelten, so wäre für Kochsalz, da $D = 1$, auch $\frac{1}{D} = 1$. Die Kolonne würde also Auskunft darüber geben, um wieviel mal größer oder kleiner der hydrodynamisch wirksame Molekularradius des betreffenden Elektolyten sei, als derjenige eines Kochsalzmoleküls. Näheres darüber s. u.

Die Kolonne 10 gibt (unter den gleichen Voraussetzungen und Vorbehalten) einen ungefähren Schätzungswert für das Volumen des Moleküls inklusive seiner etwaigen Wasserhülle, wiederum bezogen auf das Volumen des Kochsalzmoleküls als Einheit. Die eingesetzten Werte sind einfach die 3. Potenzen der reziproken Werte der Diffusionskoeffizienten, da ja, im Sinne Einsteins, wenn man sich die Moleküle als Kugeln vorstellt:

$$V = \frac{4 r^3 \pi}{3} = \frac{4\pi}{3} \left(\frac{\text{const}}{D}\right)^3.$$

Die Diskussion darüber, inwieweit derartige Vorstellungen berechtigt oder nicht berechtigt erscheinen, wird weiter unten folgen.

Die Tabelle II enthält, gesondert nach A. Säuren, B. Alkalien, C. Salzen mit schwacher Hydratbildung, D. Salzen mit starker Hydratbildung, E. stark polymerisierten Salzen Angaben über den effektiven und theoretischen Invasionsfaktor und den Dissoziationsgrad der betreffenden Elektrolyten.

IV.

Diskussion der Beobachtungen in bezug auf Diffusionsvorgänge in wäßrigen Lösungen.

A. Diffusionsgeschwindigkeit in wäßriger Lösung und Ionenbeweglichkeit.

Wäre die Diffusionsgeschwindigkeit unter allen Umständen ausschließlich von der Ionenbeweglichkeit, wie sie aus den Überführungszahlen berechnet werden kann, im Sinne der Nernstschen Diffusionsgleichung $D = RT\frac{uv}{u+v}$ abhängig, so müßte

der „theoretische Invasionsfaktor“ $\frac{N_{Elektrolyt}}{N_{NaCl}}$ (Kolonne 4), der den Einfluß der Ionenbildung numerisch zum Ausdruck bringt, mit dem Diffusionskoeffizienten eines Elektrolyten (Kolonne 2) annähernd übereinstimmen. [Wir erinnern daran, daß wir N_{NaCl} als Einheit wählen, und daß andererseits auch der Diffusionskoeffizient des Kochsalzes für eine $^m/_1$-Lösung bei 18° fast genau = 1 gesetzt werden kann[1])].

Wie verhält sich nun die Sache tatsächlich?

Die Mehrzahl der Elektrolyte unserer Tabelle I, insoweit dieselben schnell diffundieren und einen Diffusionskoeffizienten aufweisen, der größer ist als 0,9, zeigen nun tatsächlich einen weitgehenden Parallelismus zwischen Diffusionskoeffizienten und theoretischen Invasionsfaktoren:

	HCl	HNO_3	NH_3	KOH	KBr	KJ
Diffusionskoeffizient	2,25	2,20	1,63	1,59	1,39	1,37
Theoretischer Invasionsfaktor	2,04	1,96	1,76	1,79	1,27	1,25

	NaOH	KCl	NH_4Cl	KNO_3	NaJ	NaCl	NaBr	LiCl	LiBr
Diffusionskoeffizient	1,35	1,33	1,20	1,13	1,01	1,00	1,00	0,92	0,90
Theoretisch. Invasionsfaktor	1,32	1,24	1,24	1,20	1,00	1,00	1,01	0,85	0,86

Unter den relativ schnell diffundierenden Elektrolyten der oberen Hälfte unserer Tabelle zeigen nur deren zwei ein atypisches Verhalten: die Schwefelsäure und die Ameisensäure.

	H_2SO_4	Ameisensäure
Diffusionskoeffizient	1,33	1,13
Theoretischer Invasionsfaktor	2,13	1,56

Beide diffundieren um sehr vieles langsamer, als die Theorie es erfordert. Nun ist uns schon bei unserer ersten Untersuchung das durchaus atypische Verhalten der Schwefelsäure und ihrer Salze bei der Diffusion aufgefallen. Was die Ameisen-

[1]) Thovert ermittelte den Diffusionskoeffizienten des Kochsalzes für 0,9 mol/l bei 15° = 0,97; T. Svedberg und A. Andreen-Svedberg (Zeitschr. f. physikal. Chem. 76, 150, 1911) für 5 g NaCl + 100 g H_2O bei 16,2 bis 16,6° = 1,024 bis 1,029.

säure betrifft, hat Jones[1]) zwar dieselbe nicht untersucht, jedoch für eine Reihe anderer schwach dissoziierter organischer Säuren deren ausgesprochene Tendenz, in wäßriger Lösung der Polymerisation zu unterliegen, betont.

Wenden wir uns nunmehr der Betrachtung der unteren Hälfte unserer Tabelle zu, so fällt sofort auf, daß alle hier eingereihten Elektrolyte viel langsamer diffundieren, als ihr theoretischer Invasionsfaktor es erfordert.

Oxalsäure	Essigsäure	$CaCl_2$	$BaCl_2$	$(NH_4)_2SO_4$	K_2SO_4	K_2CrO_4
Diffusionskoeffizient:						
0,84	0,84	0,81	0,80	0,76	0,74	0,72
Theoretischer Invasionsfaktor:						
2,00	1,17	1,13	1,16	1,27	1,27	1,30

$SrCl_2$	Na_2SO_4	$MgCl_2$	$CuCl_2$	$MgSO_4$	$ZnSO_4$
Diffusionskoeffizient:					
0,72	0,70	0,56	0,50	0,50	0,48
Theoretischer Invasionsfaktor:					
1,08	1,03	1,04	1,03	1,05	1,05

Diese Elektrolyte zerfallen nun wiederum in zwei Kategorien:

Einerseits sind es Salze, die nach Jones in Lösung stark hydratisiert sind und deren hochgradige Hydratation bereits im festen Zustande in ihrem Krystallwassergehalte zum Ausdrucke gelangt ($CuCl_2 . 2H_2O$, $BaCl_2 . 2H_2O$, $MgCl_2 . 6H_2O$, $CaCl_2 . 6H_2O$, $SrCl_2 . 6H_2O$).

Andererseits aber sind es Säuren und Salze, die nach Jones in ihren Lösungen eine ausgesprochene Neigung zur Polymerisation aufweisen (Oxalsäure, Essigsäure, K_2CrO_4, K_2SO_4, Na_2SO_4, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4 . 7H_2O$, $ZnSO_4 . 7H_2O$).

Wir kommen auf das Hydratationsproblem noch später zurück und wollen also zunächst die Tatsache uns vor Augen halten, daß einerseits stark hydratisierte, andererseits stark polymerisierte Elektrolyte in wäßrigen Lösungen wesentlich langsamer diffundieren, als die (aus den Überführungszahlen berechneten) Beweglichkeiten ihrer Ionen es von vornherein erwarten lassen.

---

[1]) Jones, l. c. S. 142.

Die sich so ergebende Diffusionsverzögerung ist unter Umständen eine sehr erhebliche. So sehen wir, daß die Oxalsäure, das Magnesiumchlorid und das Kupferchlorid nur ungefähr halb so langsam diffundieren, als nach ihrer Ionenbeweglichkeit zu erwarten stünde.

B. Diffusionsvermögen und Dissoziationsgrad.

Unter die das Diffusionsvermögen beeinflussenden Faktoren werden wir zweifellos auch den Dissoziationsgrad zu rechnen haben. Höber[1]) sagt darüber folgendes: „Aus der Theorie der Elektrolytdiffusion von Nernst folgt ohne weiteres, daß bei gleich stark dissoziierten Salzen die Diffusionsgeschwindigkeit um so größer sein muß, je größer die Wanderungsgeschwindigkeit ihrer Ionen . . . Als zweites bestimmendes Moment kommt der Dissoziationsgrad hinzu; je kleiner er ist, desto kleiner ist im allgemeinen die Diffusionsgeschwindigkeit. Dies ist aus der Tatsache zu schließen, daß, während stark dissoziierte Salze, also Ionen, meist die innere Reibung des Wassers vermindern, Nichtleiter sie fast immer erhöhen, und zu den Nichtleitern gehören ja auch die undissoziierten Elektrolytmoleküle . . .“

Was lehrt uns nun in dieser Hinsicht der Vergleich der Kolonnen 2 und 7 unserer Tabelle?

Wir sehen allerdings, daß die am langsamsten diffundierenden Elektrolyte unserer Reihe von der Oxalsäure abwärts durchaus relativ schwach dissoziiert sind (Dissoziationsgrad in $^m/_1$-Lösung kleiner als 0,6), andererseits finden wir im oberen Teil unserer Tabelle eine Anzahl relativ stark dissoziierter Elektrolyte mit Dissoziationsgraden von 0,75 bis 0,85 in $^m/_1$-Lösung. Wir werden uns aber dennoch davor hüten müssen, diesem gewiß nicht bedeutungslosen Umstande eine dominierende Bedeutung für die Diffusionsvorgänge zuzuschreiben. Denn wir finden den nur außerordentlich schwach dissoziierten Ammoniak unter den am schnellsten diffundierenden Elektrolyten. Sein Diffusionskoeffizient (1,63) ist von dem theoretischen Werte des Invasionsfaktors (1,76) nicht allzuweit entfernt. Wir werden also annehmen müssen, daß der Einfluß des Dissoziationsgrades auf das Diffusionsvermögen von anderen viel mächtigeren Faktoren überlagert wird.

C. Diffusionsvermögen und Hydratbildung in wäßriger Lösung.

Zahlreiche neuere Beobachtungen[2]) auf dem Gebiete der

[1]) R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 1911. 3. Aufl. S. 512.

[2]) Vgl. die Literatur bei E. Bauer, Von den Hydraten in wäßriger Lösung. Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge. F. Enke, 1903.

physikalischen Chemie haben es in hohem Grade wahrscheinlich gemacht, daß die Ionen eines in wäßriger Lösung sich befindlichen Elektrolyten sich mit einer Hülle von Wassermolekülen umgeben, die sie mit Beharrlichkeit festhalten und bei ihren Ortsveränderungen mitschleppen.

So hat z. B. Hantzsch Anomalien bei der Verteilung gewisser Stoffe zwischen zwei sich nicht mischenden Lösungsmitteln, Rothmund Beobachtungen über Löslichkeitsverminderung durch Salze, Biltz Abweichungen der Salze vom Massenwirkungsgesetze, die in den Dissoziationsverhältnissen zum Ausdruck kommen, auf Hydratbildung bezogen. Der letztere hat bereits im Jahre 1902 auf einen Zusammenhang zwischen Gefrierpunktsanomalien und Krystallwassergehalt als Beweis für das Vorhandensein von Hydraten in Lösungen hingewiesen. Abbegg und Bodländer haben die Existenz fester Salzhydrate mit derjenigen hydratisierter Ionen in Beziehung gebracht und die Regel aufgestellt, derzufolge die Neigung der Ionen zur Komplexbildung um so größer ist, je geringer ihre Elektroaffinität, nämlich die Kraft, mit der das Ion seine Ladung festhält[1]). Nernst hat aus den Konzentrationsänderungen bei der Elektrolyse auf die Hydratation gelöster Salze geschlossen. Fügt man z. B. zur Lösung einer starken Mineralsäure als indifferenten Stoff Borsäure hinzu, so macht sich bei der Elektrolyse in der Nähe der Elektroden eine Konzentrationsänderung in bezug auf die Borsäure bemerkbar, da die Ionen gebundenes Wasser mit sich führen[2]).

Jedoch auch die Beobachtungen über die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen mußten den Gedanken an eine Hydratation derselben nahelegen. Dem Molekulargewichte entsprechend sollte man z. B. erwarten, daß das Li vermöge seiner geringeren Masse rascher wandert als das Na, und dieses wiederum rascher als das K. Tatsächlich ist aber gerade das Umgekehrte der Fall. Die Hydratation nimmt nämlich von Kalium über das Natrium gegen das Lithium hin zu, und die ge-

---

[1]) „Während von den Kationen die starken Alkalien vorwiegend anhydrische Salze bilden, zeigen die schwächeren alkalischen Erden schon ein ausgeprägtes Bestreben zur Krystallwasserbindung, indem die überwiegende Mehrzahl ihrer Salze hydratisch ist. Bei den noch schwächeren dreiwertigen Metallen wie Aluminium, Ferri, Chromi ist der Reichtum ihrer Salze an Krystallwasser bekannt . . . Analoges zeigt sich bei Betrachtung der Anionen. Auch hier disponieren die schwächeren in ihren Salzen mehr als die stärkeren zur Hydratbildung. So bildet das Na mit dem starken Anion NO_3 kein Hydrat, mit dem weniger starken Cl ein wenigstens unterhalb -10^0 beständiges mit $2H_2O$, mit Br und J Hydrate, die auch bei gewöhnlicher Temperatur beständig sind, und mit SO_4 ein beständiges Hydrat von $10H_2O$" (zit. nach Bauer, l. c. S. 28).

[2]) Gassard und Oppermann, Göttinger Nachr. **1900**, S. 86.

ringe Masse des Li-Atoms wird durch die Masse der angelagerten Wasserteilchen mehr als überkompensiert. Riesenfeld und Reinhold[1]) haben versucht, unter Einführung gewisser vereinfachender Voraussetzungen die Ionenhydratation einerseits aus den Ionenbeweglichkeiten, andererseits aber aus der Änderung der Überführungszahlen mit der Konzentration zu berechnen. Anschließend gelangte Remy[2]) zu der Vorstellung, daß bei vielen einwertigen Ionen der Radius des wasserumhüllten Ions sich gerade um den Durchmesser eines Wassermoleküls von dem Radius des Ionenkernes unterscheidet. Es liegt also die Annahme nahe, daß bei diesen Ionen das den Kern bildende Atom von einer einfachen Lage von Wassermolekülen bedeckt sei. Die Zahl der Wassermoleküle, die je ein Ion trägt, wurde bewertet:

	H	Cs	Rb	K	NH_4	Na	Li	OH	J	Br	Cl	ClO_3	NO_3	CNS
Riesenfeld u. Reinhold	0	—	—	22	—	71	158	1	20	20	21	35	25	—
Remy . . .	0,2	13	14	22	17	66	120	11	15	15	16	26	19	25

Die umfassendsten Untersuchungen über die Hydratbildung in wäßrigen Lösungen rühren jedoch von Jones[3]) und seinen Mitarbeitern her. Bekanntlich entsprechen, wie die Beobachtungen über molekulare Gefrierpunktserniedrigung lehren, scheinbar nur verdünnte Lösungen von Elektrolyten den osmotischen Gasgesetzen. Fast alle Elektrolyte, mit denen in konzentrierten Lösungen gearbeitet wird, geben in Wasser Δ-Werte, die größer sind als die aus ihrer Dissoziation berechneten; (ausgenommen sind einige Sulfate, die sich in ihren Lösungen polymerisieren). In derartigen Lösungen verbinden sich nun die gelösten Teilchen mit einem Teil des Wassers unter Hydratbildung; solche Lösungen erscheinen infolgedessen beim Gefrierversuche konzentrierter, als es der Menge gelöster Substanz entspricht. Diejenigen Substanzen, die mit den größten Krystallwassermengen krystallisieren, geben nach Jones auch die komplexesten Hydrate und zeigen die stärksten molekularen Gefrierpunktserniedrigungen. Jene Substanzen dagegen, die ohne Krystallwasser krystallisieren, geben relative kleine Δ-Werte, wenn dieselben auch immerhin noch größer sind, als der Berechnung aus der Dissoziation entspricht. Die meisten untersuchten Nichtelektrolyte zeigten nur eine geringe Neigung zur Hydratbildung (Rohrzucker und Glycerin bilden Ausnahmen).

Jones hat nun (aus den Δ-Werten, dem spezifischen Gewichte der Lösungen und dem Dissoziationsgrade) für zahlreiche Elektrolyte die

[1]) E. H. Riesenfeld und B. Reinhold (Chem. Inst. Freiburg i. B.), Zeitschr. f. physikal. Chem. **66**, 672, 1909.

[2]) H. Remy (Chem. Inst. Freiburg i. Br.), Zeitschr. f. physikal. Chem. **89**, 467, 1914.

[3]) H. C. Jones u. Mitarbeiter, l. c. Carnegie Inst. of Washington-publication 1907, Zeitschr. f. physik. Chem. **49**, 385, 1904; **52**, 231, 1905; **55**, 385, 1906; **74**, 324, 1910.

Anzahl der Moleküle Wassers berechnet, die mit einem Molekül des gelösten Stoffes verbunden sind. Diejenigen seiner Angaben, die für uns von Interesse sind, sind in der Kolonne 8 unserer Tabelle I angeführt.

Im allgemeinen nimmt die Hydratation der gelösten Moleküle mit der Verdünnung und mit abnehmender Temperatur zu. Da die Leitfähigkeit mit der Ionenbeweglichkeit und diese wiederum mit der Hydratation zusammenhängt, ergaben sich aus dem Temperaturkoeffizienten der Leitfähigkeit weitere Anhaltspunkte zur Bewertung der Hydratation, ebenso aus den Farbenveränderungen, die z. B. eine Kobaltchloridlösung zeigt, wenn dieselbe mit einem stark hydratisierten Salze geschüttelt wird.

Nach Jones ist das Hydratationsvermögen eine inverse Funktion des Atomvolumens. Kalium, Rubidium und Cäsium[1]) haben ein großes Atomvolumen, ihre Salze krystallisieren ohne Krystallwasser und sind wenig hydratisiert. Lithium und Natrium haben viel kleinere Atomvolumina; einige ihrer Salze krystallisieren mit 2 bis $3 H^2O$. Co, Ni, Cu, Mn, Fe haben sehr kleine Atomvolumina, krystallisieren mit viel Wasser und sind stark hydratisiert.

Schließlich wäre zu erwähnen, daß G. Mc. P. Smith[2]) zwischen dem Molekulargewicht M unter Mitberücksichtigung des angelagerten Wassers, dem idealen Diffusionskoeffizienten J und der Ionenbeweglichkeit l die Relationen $JM^{n-1} =$ konst und $l M^{n-1} =$ konst theoretisch abgeleitet hat (wo n einen Zahlenfaktor bedeutet). Er hat dann umgekehrt versucht, aus der Ionenbeweglichkeit einen Rückschluß auf das Ausmaß der Hydratation der Ionen zu ziehen. Er berechnet die Hydratation:

H	= 2,0 (nach Werner)	OH	= 3,0 (nach Werner)
Cs	= 3,7	J	= 4,3
Rb	= 6,4	Br	= 6,7
K	= 9,6	NO_3	= 8,9
NH_4	= 10,7	Cl	= 9,6
Na	= 16,9	SCN	= 10,4
Li	= 24,0	F	= 15,7

Die Nutzanwendung, die wir aus diesen Forschungen ziehen, ist die Erkenntnis der bereits besprochenen Tatsache, daß alle stark hydratisierten Substanzen unserer

[1]) Nach E. W. Washburn (Journ. of Amer. Chem. Soc. **31**, 322; **37**, 694; Chem. Centralbl. 1909 I, 1735, 1915 I, 1358) ist das Cäsium von allen Alkaliionen am wenigsten hydratisierbar. Autor fand nach dem Prinzip von Nernst, daß, wenn man die Hydratation der Cl-Ionen = 0 annimmt, sich die Kationenhydratation H 0,28, K 1,3, Na 2,0, Li 4,7 ergibt.

[2]) G. Mc. P. Smith, Journ. of Amer. Chem. Soc. **36**, 847, 1914; **37**, 72, 1915; zitiert nach Chem. Centralbl. 1914 II, 911, 1915 I, 1358.

Tabelle langsam diffundieren und einen Diffusionskoeffizienten aufweisen, der kleiner ist als 1,0. Umgekehrt finden wir, daß alle jene Substanzen, die Jones ausdrücklich als schwach hydratisiert bezeichnet, relativ schnell diffundieren; ihre Diffusionskoeffizienten liegen durchwegs zwischen 1,0 bis 2,25.

Wir möchten noch darauf aufmerksam machen, daß es bei Bewertung des Hydratationsgrades nicht nur auf die Menge angelagerten Wassers, sondern auch auf die Festigkeit der Bindung ankommt.

So werden wir mit Jones die sehr schnell diffundierende Salz- und Salpetersäure zweifellos als schwach hydratisiert annehmen müssen. Untersucht man in $^1/_1$ molekularen Lösungen, so findet man allerdings eine Anlagerung von 9 bzw. 4 Wassermolekülen pro Molekül; man braucht aber nur um ein weniges zu verdünnen, um die Hydratation absinken zu sehen, die von 0,3 mol. Lösungen abwärts überhaupt nicht mehr meßbar wird.

D. Abhängigkeit des Diffusionsvermögens von den Dimensionen der diffundierenden Teilchen.

Einstein[1]) hat bei Entwicklung der Theorie der Brownschen Bewegungen gefunden, daß man den Diffusionskoeffizienten eines gelösten Stoffes unter der Voraussetzung berechnen kann, daß der Molekularradius des gelösten Stoffes groß ist im Vergleich zum Radius der Moleküle des Lösungsmittels. Es ergab sich die Beziehung $D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi\eta\varrho}$, wo D den Diffusionskoeffizienten, R die Gaskonstante, T die absolute Temperatur, N die Avogadrosche Konstante, η die Viscosität des Lösungsmittels und ϱ den Radius des gelösten Moleküles bedeutet. Zu ähnlichen Anschauungen sind auch Sutherland[2]) und v. Smoluchowski[3]) gelangt.

Die Ableitung von Einstein basiert auf der Formel von Stokes. Stokes hat festgestellt (und zwar ist dies durch

[1]) A. Einstein, Annal. d. Phys. (4) 17, 549; 19, 289, 1905/06; Zeitschr. f. Elektrochem. 14, 235, 1988.

[2]) W. Sutherland, Phil. Magazin (6) 9, 781, 1905.

[3]) v. Smoluchowski, Annal. d. Phys. (4) 21, 756, 1906.

Versuche mit Kugeln von meßbarem Durchmesser, z. B. 1 mm, bestätigt worden), daß der Reibungswiderstand, der sich den Bewegungen einer Kugel vom Radius ϱ und der Geschwindigkeit v entgegenstellt, innerhalb eines Mediums von der Viscosität η den Wert $6\pi\eta\varrho v$ annimmt.

Wir haben uns, um über die Anwendbarkeit des Stokesschen Gesetzes insbesondere auch auf die in Gallerten diffundierenden Elektrolytteilchen Klarheit zu gewinnen, an einen hervorragenden Fachmann auf dem Gebiete der Hydraulik, Herrn Hofrat Professor Philipp Forchheimer (z. Z. Direktor der technischen Hochschule in Konstantinopel) gewandt. Derselbe war so liebenswürdig, unsere Anfrage in dem Sinne zu beantworten, daß die Stokessche Formel bei um so größerer Geschwindigkeit gilt, je zäher die Flüssigkeit ist. So lange die Formel gilt, ist die Geschwindigkeit einer sich unter der Wirkung einer konstanten Kraft bewegenden Kugel der wirkenden Kraft direkt und dem Halbmesser der Kugel umgekehrt proportional. Der Gültigkeitsbereich des Stokesschen Gesetzes ist nicht genau festgestellt. Bei Überschreitung einer gewissen Geschwindigkeit wird jedoch der Widerstand dem Quadrate der Geschwindigkeit und dem Quadrate des Halbmessers proportional. Auch Turbulenz der Flüssigkeit (wirbelndes Fließen) kann Abweichungen vom Stokesschen Gesetze bedingen. Doch dürfte speziell in zähen Gallerten Turbulenz nicht in Frage kommen und die Stokessche Regel im allgemeinen gelten[1]).

Das Einsteinsche Diffusionsgesetz hat auch auf Suspensionen und kolloide Systeme Anwendung gefunden[2]). Die Brownschen Molekularbewegungen z. B. einer kolloidalen Goldlösung, die als eine Folge von Molekularstößen gedeutet werden, sind nach Zsigmondy in verdünnten Systemen weniger lebhaft als in konzentrierten. Überschichtet man also eine Suspension mit Wasser, so wird erst dann ein Gleichgewichtszustand eintreten, wenn in allen Schichten gleiche Bewegungsintensität, also gleiche Verdünnung sich herausgebildet hat. Th. Svedberg[3]) fand im Sinne der Einstein-Smoluchowskischen Formel die Diffusionsgeschwindigkeit von Goldsolen in erster Annäherung einfach umgekehrt proportional der Teilchen-

[1]) Vgl. diesbezüglich P. Forchheimer, Hydraulik. Verlag von B. G. Teubner, 1914, 24 und 398 bis 399.

[2]) Vgl. die Literatur bei W. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie. 2. Aufl., Dresden, Th. Steinkopf, 1911, 261 ff.

[3]) Th. Svedberg, Zeitschr. f. physik. Chem. 67, 105, 1909. Vgl. auch Th. Svedberg, Die Existenz der Moleküle. Leipzig 1912, Akad. Verlagsges.

größe. Zum gleichen Resultate führten auch Beobachtungen von Perrin[1]) an Gummiguttemulsionen. Projiziert man die Bewegungen eines Teilchens auf eine horizontale Ebene und bestimmt den Mittelwert dieser Projektionen X für die Zeit t, so ist $\frac{X^2}{t}$ charakteristisch für die Lebhaftigkeit der Brownschen Bewegungen. Es ergab sich nun für die Diffusion die Relation $D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi\eta\varrho} = \frac{X^2}{2t}$, d. h. die Diffusionsgeschwindigkeit ist einfach gleich der Hälfte jener Zahl, die die Intensität der Brownschen Bewegungen mißt. „So muß die Lebhaftigkeit der Bewegung (oder die Diffusionsgeschwindigkeit) proportional der molekularen Energie oder der absoluten Temperatur und umgekehrt proportional der Viscosität der Flüssigkeit und den Dimensionen der Teilchen sein“.

Das Einsteinsche Gesetz hat auch auf die Berechnung der Teilchengröße von Eiweißlösungen [R. O. Herzog[2])] sowie für die Ermittelung des Ionendurchmessers der Elemente [R. Lorentz[3])] Anwendung gefunden.

R. Lorentz gelangte zum Ergebnisse, die Ionendurchmesser der einwertigen Ionen seien im allgemeinen von der gleichen Größenordnung wie die Durchmesser der freien Atome. Hieraus müsse gefolgert werden, daß die Ionen nicht in dem Sinne hydratisiert sein können, daß eine erhebliche Menge von Hydratwasser in chemischer Bindung vorhanden sei. Lediglich das Li-Ion weise einen starken Hydratationsgrad auf. Es bestehe allerdings die Möglichkeit, daß einige wenige Moleküle Wasser (etwa im Sinne Werners 2 bis 4) sich in chemischer Verbindung befinden, insofern als durch eine geringe Anzahl von Wassermolekülen der Ionendurchmesser noch nicht wesentlich beeinflußt wird.

R. Lorentz bemerkt ferner, daß die tatsächliche Beweglichkeit des H- und OH-Ions derart sei, als ob eine bedeutend kleinere Kugel, als sich aus der kinetischen Gastheorie für den Atomdurchmesser berechnet, vorhanden wäre.

Aus den Strukturformeln der organischen Chemie kann man annähernd auf die relativen Dimensionen der Moleküle vieler Substanzen schließen. Indem nun Th. Svedberg und

---

[1]) J. Perrin, Die Atome (herausgegeben von Lottermoser). Verlag von Th. Steinkopf, 1914, 103 bis 106.

[2]) R. O. Herzog, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide **3**, 84, 1908.

[3]) R. Lorentz, Zeitschr. f. physik. Chem. **73**, 252, 1910.

A. Andreen-Svedberg[1]) die Diffusion derartiger Substanzen (wie Benzol, Naphthalin, Diphenyl, Triphenylmethan, Pyridin, Chinolin) in methylalkoholischer Lösung prüften, gelangten sie wiederum (mit einer gewissen Annäherung) zu einer Bestätigung der Einsteinschen Formel.

Man hat sich weiterhin bemüht, eine einfache Relation zwischen Molekulargewicht und Diffusionsvermögen abzuleiten. Die von S. Exner[2]) für Gase, von L. W. Oeholm[3]) für Lösungen von Nichtelektrolyten bei sehr großer Verdünnung abgeleitete Formel $D\sqrt{M} = \text{konst.}$ ist für eine Reihe von Nichtelektrolyten bestätigt worden[4]). Setzt man $\sqrt{M} = \varrho$ oder $M = \varrho^2$, also das Molekulargewicht proportional dem Quadrate des Molekularradius, so gelangt man wiederum zur Einsteinschen Relation.

R. O. Herzog[5]) dagegen zieht das spezifische Volumen v mit in Rechnung und gelangt so zu der Relation $D\eta\sqrt[3]{Mv} = \text{konst}$, die wiederum für eine Anzahl von Nichtelektrolyten eine annähernde Bestätigung gefunden hat[6]). Auf Elektrolyte erwies sie sich uns, auch wenn bei der Berechnung das Krystallwasser berücksichtigt wurde, nicht ohne weiteres anwendbar.

Dem gegenwärtigen Stande des Problems entsprechend liegt also, vorläufig wenigstens, kein triftiger Grund vor, der es verbieten würde, die Einsteinsche Formel, die sich für suspendierte Teilchen und für die Moleküle von Nichtelektrolyten als brauchbar erwiesen hat, auch auf die Moleküle diffundierender Elektrolyte anzuwenden, um über den Umfang der Wasserhüllen, die sie bei ihren Bewegungen mitschleppen, eine wenn auch nur ganz ungefähre Vorstellung zu erlangen.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend haben wir, den Radius eines diffundierenden Kochsalzteilchens (inklusive einer etwaigen Wasserhülle) als Einheit wählend, in Kolonne 9 die reziproken Werte der Diffusionskoeffizienten als Maßzahlen für

---

[1]) Th. Svedberg und A. Andreen-Svedberg, Zeitschr. f. phys. Chem. **76**, 145, 1911.

[2]) S. Exner, Sitzungsber. Akad. Wien **56**, 116, 1867.

[3]) L. W. Oeholm, Zeitschr. f. physik. Chem. **70**, 378, 1910.

[4]) L. W. Oeholm, Mitteil. d. Nobel-Institutes (2) 23, 24, 26; Chem. Centralbl. **1913** II, 1648, 1649, 1651. — J. Thovert, Compt. Rend. **138**, 481 und frühere Mitteilungen.

[5]) R. O. Herzog, Zeitschr. f. Elektrochem. **16**, 1003, 1910.

[6]) M. Padoa u. F. Corsini, Atti R. Accad. dei Lincei, Roma **24** II, 461 (1915); zit. Chem. Centralbl. **1916** I, 1223.

die hypothetischen Radien der Moleküle mit Einschluß ihrer Wasserhüllen eingesetzt. Die 3. Potenzen dieser Zahlen in Kolonne 10 sollten uns schließlich einen ungefähren Maßstab für das Volumen der (kugelförmig gedachten) hydratisierten Moleküle (wiederum auf das Kochsalzmolekül als Einheit bezogen) liefern.

Falls also obige Überlegungen richtig sein sollten, müßte (stets eine etwa vorhandene Wasserhülle mit eingerechnet) das Volumen eines HCl- oder HNO_3-Moleküls ungefähr nur $^1/_{10}$, dasjenige eines NH_3- oder KOH-Moleküls nur $^1/_4$, dasjenige eines H_2SO_4-, KCl-, KBr-, KJ-Moleküls ungefähr $^2/_5$, dasjenige eines KNO_3- oder Ameisensäuremoleküls $^3/_4$ des Volumens eines Kochsalzmoleküls entsprechen. Die Moleküle von NaBr und NaJ wären ungefähr von derselben Größenordnung wie diejenigen des NaCl; dieselben würden dagegen von den Molekülen des LiCl und LiBr um etwa $^1/_3$, von denjenigen der (stark polymerisierten) Oxal- und Essigsäure um $^2/_3$ an Größe übertroffen. Die Moleküle des $CaCl_2$ und $BaCl_2$ wären mitsamt ihren Wasserhüllen etwa doppelt so groß wie die NaCl-Moleküle, die polymerisierten Moleküle des K_2SO_4, $(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4 und K_2CrO_4, die stark hydratisierten des $SrCl_2$ wären 2- bis 3mal, die noch in höherem Grade hydratisierten des $MgCl_2$ etwa 6mal, diejenigen des $CuCl_2$, $MgSO_4$ und $CuSO_4$ gar 8- bis 9mal so groß wie NaCl-Moleküle.

Inwieweit dies wirklich zutrifft, läßt sich heute wohl schwerlich entscheiden. Die absoluten Zahlenwerte für die Hydratation der Ionen und Moleküle, die von verschiedenen Autoren angegeben worden sind, zeigen untereinander so ungeheure Abweichungen, daß man sicherlich allen Grund hat, sich vor kategorischen Behauptungen in dieser Richtung zu hüten. Falls die Hydratation eines Moleküls eine additive Eigenschaft der Hydratation seiner Ionen sein sollte (was allerdings weder bewiesen noch von vornherein selbstverständlich ist), würde sich beispielsweise für die Hydratation eines LiBr-Moleküls ergeben: nach Jones 13, nach Smith 31, nach Remy 135, nach Riesenfeld und Reinhold gar 178 Moleküle H_2O pro Molekül LiBr. — Für ein Molekül KOH lauten die analogen Zahlen 7, 14, 23, 23 H_2O, für ein Molekül KCl 0, 19, 38, 43 usw.

Man wird daraus den logischen Schluß ziehen müssen, daß das Problem noch nicht so weit gereift ist, um mit positiven Zahlenangaben viel anfangen zu können. Vielleicht liegt die Lösung dieses Widerspruches in einer von Remy[1]) angedeuteten Richtung. Er meint, bei der Bestimmung der Ionenhydratation habe man wohl zu unterscheiden zwischen einer durch chemische Kräfte bedingten Wasseranlagerung an die Ionen (hydratisierte Ionen) und einer mechanischen Adhärenz des Wassers an dieselben (hydradhärente Ionen). Je nach der bei der Messung angewandten Methode werde man es entweder nur mit der einen Art der Wasseranlagerung oder mit der Summe beider zu tun haben. Wir möchten dem Gesagten noch hinzufügen, daß es gar nicht von vornherein wahrscheinlich ist, daß die Zahl der locker mechanisch adhärenten Wasseratome für eine Ionenart selbst bei gegebener Konzentration überhaupt eine Konstante im physikalischen Sinne sei. Wir könnten uns vielmehr sehr wohl vorstellen, daß die lockere Wasserhülle, die ein Molekül bei seinen Bewegungen begleitet, je nach dem Gesamteffekte der innerhalb des Systems vorhandenen elektrostatischen und chemischen Anziehungskräfte und anderer Energieformen und gewissermaßen als Resultierende derselben, einem steten Wechsel unterworfen sei.

So glauben wir uns denn vorläufig mit der Feststellung begnügen zu sollen, daß ein Elektrolyt um so langsamer diffundiert, je stärker seine Moleküle hydratisiert oder aber in je höherem Grade sie polymerisiert sind.

V.

Diskussion der Beobachtungen in bezug auf Diffusionsvorgänge in Gallerten.

In der Literatur finden sich in bezug auf den Vergleich des Verhaltens verschiedener Elektrolyte bei ihrer Diffusion in Gallerten und kolloiden Medien nur einige spärliche Andeutungen.

So erwähnt Hamburger[2]), daß Chloride schneller im Darme re-

[1]) Remy, l. c.

[2]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre 2, 195ff., 1904.

sorbiert werden als Bromide, und diese wiederum schneller als Jodide, trotzdem die Diffusionsgeschwindigkeiten von NaCl, NaBr und NaJ, sowie andererseits von KCl, KBr und KJ untereinander übereinstimmen. Hamburger meint, dies könnte mit der Quellungsbeeinflussung der Darmkolloide zusammenhängen. „Es wäre danach möglich, daß die Jodide in den Resorptionswegen eine stärkere Quellung veranlassen als die Bromide und diese wieder eine stärkere als die Chloride, und daß so eine verschieden große Einengung der Passage zustande kommt".

K. Meyer[1]) im Laboratorium Hofmeisters fand beim Vergleiche von NaCl, NaBr, NaJ und Na_2SO_4 in bezug auf die in eine Gallerte hineindiffundierende Menge eine auffallende Bevorzugung des Kochsalzes. Ferner hat Durham[2]) die Diffusionswege verschiedener Säuren in Lackmus-Gelatine miteinander verglichen (s. u.). Schließlich hat Vanzetti[3]) die Diffusion von HCl, HBr, HJ und HNO_3 in silbernitrathaltiger Gelatine beobachtet und gemeint, es sei im wesentlichen die Ionenbeweglichkeit, die die Diffusion auch in Gallerten regelt.

Wir wollen nun unsere eigenen Beobachtungen erörtern. Wir gruppieren der Übersichtlichkeit halber (vgl. Tabelle Nr. 2) unsere Elektrolyte in A. Säuren, B. Basen, C. Schwach hydratisierte Salze, D. Stark hydratisierte Salze, E. Stark polymerisierte Salze.

A. Säuren.

Die Beobachtungen von Durham deuteten darauf hin, daß schwache Säuren langsamer diffundieren als starke. Die Umrechnung seiner Zahlen ergibt, wenn man den Diffusionsweg der HCl = 100 setzt, für HNO_3 97, H_2SO_4 77 bis 84, Essigsäure 66, Oxalsäure und Ameisensäure 64.

Wir haben bei einem Vorversuche, um uns über den Einfluß der Stärke der Säure ins Klare zu kommen, für einige Säuren in $^n/_2$-Lösung den Diffusionsweg in 5%iger Kongo-Gelatine verglichen. Andererseits aber haben wir auf Grund der Inversionskoeffizienten (nach Ostwald für $^n/_2$-Säuren bei 25°) Salzsäure jeweilig so weit verdünnt, daß ihr Inversionsvermögen demjenigen der betreffenden Säure annähernd gleichkam. Es ergab sich so als mittlerer Diffusionsweg in Millimetern (nach dem Stefanschen Gesetze berechnet) bei 3tägiger Beobachtung für

---

[1]) K. Meyer, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 392, 1906.

[2]) R. G. Durham, Proc. Roy. Soc., London (1) 78, 342, 1906.

[3]) B. L. Vanzetti, Zeitschr. f. Elektrochemie 20, 570, 1914 und frühere Mitteilungen.

		HCl auf ein der betr. Säure entsprechendes Inversionsvermögen verdünnt:	
HCl n/2	43,5		43,5
HNO_3 n/2	40,8	"	43,5
Chlorsäure n/2 . . .	39,3	"	43,5
Schwefelsäure n/2 .	34,0	"	37,1
Benzolsulfosäure n/2	31,6	"	43,5
Dichloressigsäure n/2	31,3	"	30,4
Trichloressigsäure n/2	29,6	"	41,2

Die Unstimmigkeiten sind insbesondere bei der Benzolsulfosäure und der Trichloressigsäure so groß, daß schon daraus hervorgeht, daß die Diffusionsgeschwindigkeit keinesfalls in erster Linie von der Stärke der Säure bedingt sein kann.

Auch aus unserer Tabelle ersehen wir, daß z. B. Trichloressigsäure viel langsamer diffundiert als die schwächer dissoziierte Oxalsäure.

Vor allem aber ersehen wir aus unserer Tabelle, daß die effektiven Invasionsfaktoren aller untersuchten Säuren sehr weit hinter den theoretischen Invasionsfaktoren zurückbleiben — oder, mit anderen Worten: Alle Säuren diffundieren in Gallerten viel langsamer, als ihren Ionenbeweglichkeiten gemäß zu erwarten stünde. Die Abweichungen sind sehr erhebliche; so für HCl 1,25 statt 2,04, für Oxalsäure 1,10 statt 2,00. Bei der freien Diffusion in wäßriger Lösung diffundieren zwar manche der Säuren (insoweit sie polymerisiert sind, wie die Schwefelsäure und die schwachen organischen Säuren) gleichfalls viel langsamer, als die Theorie es erfordert. Dagegen gilt dies nicht für die HCl und HNO_3, bei denen der Diffusionskoeffizient und der theoretische Invasionsfaktor annähernd übereinstimmen.

B. Basen.

Ähnliches wie für Säuren gilt für die untersuchten Basen: die Schnelligkeit, mit der dieselben in der Gallerte fortschreiten, bleibt weit hinter der Diffusionsgeschwindigkeit in wäßriger Lösung zurück, die wiederum in diesem Falle der Ionenbeweglichkeit annähernd adäquat erscheint.

C. Schwach hydratisierte Salze.

In der Gruppe der Salze mit schwacher Hydratation finden wir (in Übereinstimmung mit den alten Angaben von Th. Graham und von Voigtländer am Kochsalz) die Diffusionsgeschwindigkeit innerhalb der Gallerte von derselben Größenordnung wie

diejenigen bei freier Diffusion, wenngleich bei den schneller diffundierenden Salzen dieser Gruppe (den Halogenverbindungen des K und dem NH_4Cl) ein Zurückbleiben hinter den theoretisch geforderten Werten auch hier unverkennbar ist.

D. Stark hydratisierte Salze.

Entgegen aller Erwartung verhielten sich die mit Krystallwasser krystallisierenden Salze mit starker Hydratationstendenz; (untersucht wurden die Chloride der alkalischen Erden, des Zn, Cu, Ni; auch das Lithiumchlorid schließt sich nicht dem NaCl, KCl und NH_4Cl an, gehört vielmehr zu dieser Gruppe). Diese Salze, mit Ausnahme des LiCl, diffundieren in wäßriger Lösung viel langsamer als ihrer Ionenbeweglichkeit entspricht. Wir hatten erwartet, daß diese Diffusionsverzögerung in einer Gallerte noch stärker zum Ausdrucke gelangen werde als bei freier Diffusion. Gerade das Gegenteil war aber der Fall. In eine Gallerte dringen diese Salze nicht viel langsamer ein, als ihre Ionenbeweglichkeit es erfordert. Während z. B. der Diffusionskoeffizient des Kupferchlorids bei freier Diffusion nur etwa halb so groß ist, als nach der aus den Überführungszahlen berechneten Ionenbeweglichkeit zu erwarten wäre, und während dieses Salz nur etwa halb so schnell diffundiert wie das Kochsalz, hält es beim Eindringen in eine Gallerte mit dem Kochsalz nahezu gleichen Schritt.

E. Polymerisierte Salze.

Diese Gruppe, die in unserer Tabelle durch einige Sulfate und durch das Kaliumchromat vertreten ist, erscheint dadurch charakterisiert, daß diese Salze sowohl bei freier Diffusion als auch beim Eindringen in eine Gallerte weit langsamer vordringen, als ihre Ionenbeweglichkeit es erfordert. Vermutlich verhält sich die Sache so, daß bei der elektrolytischen Überführung zwar die Ionen sozusagen isoliert auftreten und sich bewegen. Insolange aber keine trennende Ursache sich geltend macht (und beim Diffusionsversuche ist eine solche nicht vorhanden), vereinigen sich die Ionen zu größeren Verbänden, die naturgemäß ihrer Fortbewegung innerhalb der Flüssigkeit einen größeren Widerstand entgegensetzen.

Es erübrigt sich noch die Erörterung der Frage, warum die Diffusion innerhalb der Gallerte im Vergleich zur freien Diffusion für Säuren und Basen erheblich verzögert, für stark hydratisierte Salze aber beschleunigt ist. Wir werden mit der Annahme nicht fehl gehen, daß eine Wechselwirkung zwischen den diffundierenden Ionen und den Kolloiden der Gallerte dabei das Wesentliche sei. Inwieweit aber dabei Änderungen der chemischen Affinität, der Ionenadsorption, des Quellungszustandes, der Viscositätsänderung, der elektrostatischen Ladung, der Hydratation und noch andere Faktoren beteiligt sind, muß erst durch weitere Untersuchungen aufgeklärt werden.

So wäre es sicherlich z. B. verlockend, die Diffusionsverzögerung einer Säure oder Base in Gelatine auf Quellungszunahme und die dadurch bedingte Passagebehinderung oder auf Viscositätszunahme zu beziehen. Doch scheint diese Erklärung nicht zuzutreffen. Wenigstens sahen wir, daß Stücke wassergequollenen Agars in Elektrolytlösungen an Gewicht abnehmen: die Gewichtszunahme lufttrockener Stücke betrug pro Gramm trockenen Agars in H_2O 17,16 g, in $^n/_{10}$-HCl 14,25 g, in $^n/_{10}$-$CH_3 \cdot COOH$ 12,31 g, in $^n/_{10}$-KOH 13,50 g, in $^n/_{10}$-NaCl 16,38 g, in $^n/_{10}$-KCl 16,00 g. Wurden wassergequollene Agarstücke hinterher in Elektrolytlösungen übertragen, so betrug die Gewichtsabnahme pro Gramm trockenen Agars in n-HCl 6 g, in n-$CH_3 \cdot COOH$ 3 g, in n-NaOH 1 g, in n-KOH 4 g, in n-NaCl 7 g, in n-KCl 6 g.

Man wird also vielleicht eher annehmen müssen, daß die zwischen einer eindringenden Säure oder Base und den Kolloidteilchen sich geltend machenden chemischen Affinitäten im Sinne einer Verzögerung der Fortbewegung der Ionen wirksam sind.

Auch könnte man vielleicht daran denken, daß die stark hydratisierten Salze deswegen in einer Gallerte rascher vordringen als in reinem Wasser, weil durch die Konkurrenz der Kolloidteilchen um das Wasser die Wasserhülle, welche die einzelnen Teilchen umgibt, gelockert wird.

Wir gedenken unsere Untersuchungen einerseits in der angedeuteten Richtung fortzusetzen, andererseits aber den Einfluß von Begleitsubstanzen auf den Diffusionsweg von Elektrolyten und Nichtelektrolyten genauer zu studieren.

Zusammenfassung.

1. Zahlreiche Elektrolyte weisen bei freier Diffusion in wäßriger Lösung ein Diffusionsvermögen auf, das der (aus den Überführungszahlen berechneten) Beweglichkeit ihren Ionen im Sinne der Nernstschen Relation $D = RT\frac{uv}{u+v}$ durchaus adäquat ist. Es handelt sich hier durchwegs um relativ schnell diffundierende Substanzen mit einem Diffusionskoeffizienten, der größer ist als 0,9. Hierher gehören z. B. starke Mineralsäuren (mit Ausnahme der Schwefelsäure) und anorganische Basen, sowie die Halogenverbindungen der Alkalimetalle.

2. Zahlreiche andere Elektrolyte diffundieren dagegen bei freier Diffusion in wäßriger Lösung erheblich langsamer als ihrer Ionenbeweglickeit gemäß zu erwarten wäre.

3. Hierher gehören zunächst Salze, die in wäßriger Lösung stark hydratisiert sind, derart, daß man sich vorstellen muß, die die Moleküle umgebende Wasserhülle behindere die freie Beweglichkeit derselben. Salze dieser Art verraten ihre Neigung zur Wasserbindung durch ihren Krystallwassergehalt, durch scheinbare Abweichung ihres osmotischen Verhaltens von den einfachen Gasgesetzen und andere physikalisch-chemische Eigentümlichkeiten. Hierher gehören z. B. die Chloride der alkalischen Erden und das Kupferchlorid.

4. Außerdem diffundieren aber auch solche Elektrolyte in abnorm langsamer und atypischer Weise, deren Moleküle eine ausgesprochene Neigung zur Polymerisation aufweisen. Hierher gehören z. B. die Schwefelsäure und ihre Salze, zahlreiche schwache organische Säuren und das Kaliumchromat.

5. Der Diffusionsvorgang in einer Gallerte verläuft vielfach ganz anders als derjenige bei freier Diffusion in wäßriger Lösung und ist von der jeweiligen Beschaffenheit der Gallerte im weitesten Umfange abhängig. Um das Verhalten verschiedener Elektrolyte bei der Diffusion in verschiedenen Gallerten miteinander vergleichen zu können, wählten wir als relatives Maß für das Diffusionsvermögen das Verhältnis der Diffusionswege, die ein Elektrolyt einerseits, eine Kochsalzlösung andererseits bei gleicher molekularer Konzentration und gleicher Temperatur innerhalb eines gleichen Zeitabschnittes

beim Hineindiffundieren in eine und dieselbe Gallerte zurücklegen. Wir haben für dieses Verhältnis die Bezeichnung „Invasionsfaktor" vorgeschlagen.

6. Die Schnelligkeit, mit der Säuren, Basen und polymerisierte Salze in einer Gallerte vordringen, ist weit geringer als ihrer Ionenbeweglichkeit adäquat ist. Schwach hydratisierte Salze zeigen auch innerhalb einer Gallerte ein normales Verhalten bei der Diffusion. Stark hydratisierte Salze erleiden wider Erwarten innerhalb einer Gallerte nicht nur keine stärkere Verzögerung als bei freier Diffusion, sie diffundieren vielmehr relativ schneller als in letzterem Falle, derart, daß ihre nach dem Diffusionswege abgeschätzte Diffusionsgeschwindigkeit sich dem durch die Ionenbeweglichkeit gegebenen theoretischen Grenzwerte nähert.

Untersuchungen über Säurebildung bei Pilzen und Hefen.

II. Mitteilung.

Von

Friedrich Boas und Hans Leberle.

(Aus dem botanischen und chemisch-technischen Laboratorium der Akademie Weihenstephan.)

(Eingegangen am 26. Juli 1918.)

Mit 5 Kurven.

In unserer ersten Mitteilung[1]) wurden fast ausschließlich Untersuchungen verwertet, die mit Dextrose als Kohlenstoffquelle gewonnen wurden. Es konnte demgemäß der Einfluß der Stickstoffquelle auf die Größe und den Chemismus der $H^{\cdot}$-Bildung während der Stoffwechselvorgänge festgelegt werden. Die vorliegende Arbeit sucht den Einfluß der Kohlenstoffquelle bei gleicher Stickstoffquelle zu erfassen; sie bringt demnach eine notwendige Ergänzung zu unserer ersten Mitteilung. Die Methodik ist hier die gleiche wie in unserer ersten Arbeit, es kann also hier darüber weggegangen werden.

Versuche mit Mycoderma.

Die Gattung Mycoderma, eine physiologisch sehr scharf charakterisierte und von den Gattungen der ersten Mitteilung hinsichtlich ihres biochemischen Verhaltens verschiedene Gattung, zeigt hinsichtlich ihres Säurebildungsvermögens bemerkenswerte Eigenheiten, wie die folgenden Übersichten beweisen.

Bei den einzelnen Versuchen ist für die Nährlösung stets nur die Kohlenstoff- und Stickstoffquelle angegeben, die allein wechseln. Das übliche Schema bzw. die Konzentration der Lösung ist (wie in der ersten Mitteilung):

---

[1]) Siehe diese Zeitschr. 90, 1918.

5 % Kohlenstoffquelle,
0,25 % KH_2PO_4,
0,12 % $MgSO_4$,
0,5 % Stickstoffquelle.

Einsaat ca. 0,5 Millionen Zellen in 50 ccm Nährlösung im 100 ccm-Erlenmeyerkolben. Temperatur 20°. In den Versuchen 20 bis 23 kam eine dem Mycoderma a Henneberg nahestehende Form zur Verwendung.

Versuch 20.

Versuchsbeginn 11. V. 1918.
Dextrose-Ammonsulfat.

Datum	Aktuelle Säure (p_H·)	Potentielle Säure ccm	ccm		Bemerkungen
Kontrolle	4,33				
14. V.	2,95	2,90[1])	0,45[2])	Verwendet 10 ccm Nährlösg., titriert mit n/10 KOH	Äußerst gebrechliche glasartige Decke.
15.	2,64	—	—		
16.	2,63	3,45	—		
17.	2,47	3,70	0,75		Am 17. V. noch 4 % Dextrose unverbraucht i. der Nährlösung.
23.	2,36	5,70	1,70		

Versuch 21.

Dextrose-Asparagin.

Datum	Aktuelle Säure (p_H·)	Potentielle Säure ccm	ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,32	2,90[3])		
14. V.	3,29	4,00	0,45[4])	14. V. 2,2 % Zucker in der Nährlösung.
15.	3,21	4,45	—	15. V. 0,7 % Zucker in der Nährlösung.
16.	2,86	5,65	—	
17.	3,14	5,70	1,00	
23.	3,12	7,50	—	
31.	3,26	—	—	

Versuch 22.

Dextrose-Harnstoff.

Datum	Aktuelle Säure (p_H·)	Potentielle Säure gegen Phenolphthal. ccm	Bemerkungen
Kontrolle	6,38	1,45	
14. V.	6,19	1,70	
15.	4,43	3,65	
16.	4,36	3,65	2,50 % unverbrauchter Zucker in der Nährlösung.
17.	4,68	4,00	
23.	3,76	12,80	0,60 % unverbrauchter Zucker in der Nährlösung.
31.	4,46	—	

[1]) Indicator Phenolphthalein.
[2]) Indicator Methylorange.
[3]) Indicator Phenolphthalein.
[4]) Indicator Methylorange.

In diesen 3 Versuchen findet durchwegs starkes Wachstum statt. Der maximal erreichte Säurewert mit $p_{H^\cdot}$ 2,36 entsteht durch die aus Ammonsulfat freiwerdende Schwefelsäure des Versuchs 20; es kann infolge ihrer starken Dissoziation nicht wundernehmen, daß das Wachstum bald gehemmt wird.

Es soll das besonders betont werden, um den Fehler zu vermeiden, in den gemessenen Säurewerten allein einen Maßstab für die Wachstumstätigkeit zu erblicken. Wir sehen ja, daß bei Verwendung von Asparagin in derselben Zeit nur noch 0,7 % Zucker vorhanden sind. Trotzdem ist die H˙-Konzentration mit $p_{H^\cdot}$ 2,86 um eine halbe Zehnerpotenz niedriger als im Versuch 20. In beiden Fällen bleibt das erreichte Säuremaximum längere Zeit nahezu konstant. In Versuch 20 steigt die H˙-Konzentration von $p_{H^\cdot}$ 4,32 auf 2,66, in Versuch 21 vom gleichen Ausgangsort auf 2,86, durchläuft also den Bereich von 2 bis 1½ Zehnerpotenzen.

Dagegen fällt im Versuch 22 die H˙-Konzentration von $p_{H^\cdot}$ 6,38 auf 3,76, durchläuft also hier den Bereich von 2½ Zehnerpotenzen. Es würde demnach bei Gegenwart von Harnstoff verhältnismäßig am meisten Säure gebildet werden. Der Einfluß der Stickstoffquelle, bzw. der aus ihr entstehenden Spaltprodukte auf den Wert der H˙-Konzentration ist im Versuche 20 bis 21 sehr schön zu erkennen, da das Ausgangskonzentrations-$p_{H^\cdot}$ 4,32 in beiden Fällen gleich war. Der Einfluß der Stickstoffquelle fällt noch um so mehr auf, als in Versuch 21 fast der ganze Zucker, in Versuch 20 aber nur ⅕ der vorhandenen Menge verbraucht war.

Eine H˙-Konzentration von $p_{H^\cdot}$ 2,30 scheint nun für Mycoderma diejenige Grenze darzustellen, bei der gerade noch ein nennenswertes Wachstum stattfinden kann, d. h. es würden bei Ernährung mit Ammonsalzen starker Mineralsäuren H˙-Konzentrationen entstehen, die als maximale, ja geradezu als letale Werte anzusehen sind, jedenfalls weit außerhalb eines H˙-Optimums liegen. Um nun Anhaltspunkte über das Verhalten des Pilzes zu bekommen, wenn man ihm von vornherein diese maximale H˙-Konzentration zur Verfügung stellt, schalteten wir eine dementsprechende Versuchsreihe mit einem Ausgangs-$p_{H^\cdot}$ von 2,48 (Milchsäure-Asparagin) ein, deren Ergebnisse folgende waren:

Versuch 23.

Milchsäure 1,9%, Asparagin 0,5%.

Datum	Aktuelle Säure p_H	Potentielle Säure gegen Phenolphth. ccm	Bemerkungen
Kontrolle	2,48	22,50	
15. V.	2,49	—	
17.	2,63	—	Kein Wachstum.
23.	2,69	13,50	
31.	2,89	22,40	Wachstum gering.

Hieraus kann man entnehmen, daß bei dieser Ausgangsacidität der Pilz schon stark geschädigt und daß erst am 4. bis 5. Tage ein kärgliches Wachstum einsetzt. Es bildet sich nur eine dünne, geschlossene Decke, aber weiter geht das Wachstum nicht. Dabei ist es besonders interessant, daß Milchsäure etwas giftiger zu wirken scheint als Schwefelsäure, insofern als der Pilz mit Ammonsulfat ein p_H von 2,36 erreicht und dabei noch ziemlich gedeiht, während bei Anwesenheit von Milchsäure ein p_H von 2,48 tagelang jede Entwicklung hemmt. Diese Wirkung der Milchsäure ist zweifellos als reine Anionenwirkung aufzufassen, auf die wir später in besonderen Versuchen eingehen.

Kurve I.
Organismus: Mycoderma.
Versuch 20: Dextrose-Ammonsulfat.
„ 21: Dextrose-Asparagin.
„ 22: Dextrose-Harnstoff.
„ 23: Milchsäure-Asparagin.

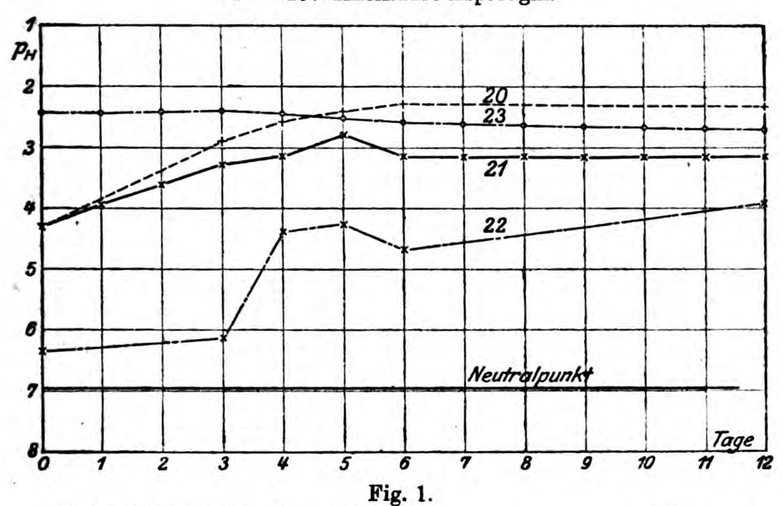


Fig. 1.

In den 3 erwähnten Versuchen diente Dextrose als Kohlenstoffquelle, geändert war nur die Stickstoffquelle. Infolgedessen ließ sich ihr Einfluß auf die Größe der H˙-Bildung sehr deutlich erkennen. Ein wesentlich anderes Bild erhalten wir bei Benützung verschiedener Kohlenstoffquellen bei gleicher Stickstoffquelle. In diesem Fall tritt der

Einfluß der Kohlenstoffquelle

sehr stark hervor. Dies zeigen die folgenden 3 Versuche mit einer anderen Art von Mycoderma, nämlich mit Mycoderma valida Leberle[1]).

a) Versuche mit Mycoderma.

(Mycoderma valida Leberle.)

Versuch 38[2]).

Versuchsbeginn 23. VI. 1918.
5 % Maltose-Asparagin.

Datum	Aktuelle Säure p_H	Potentielle Säure gegen Phenolphth. ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,09	1,80	
26. VI.	4,56	2,15	Anfangs starkes Wachstum, dann scheinbar Stillstand; Neßler-Reaktion auf Ammoniak: negativ.
27.	4,72	2,10	
28.	4,60	2,30	
12. VII.	4,80	2,00	

Versuch 39[2]).

5 % Äthylalkohol-Asparagin.

Datum	Aktuelle Säure p_H	Potentielle Säure ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,39	1,80	Rasches Wachstum, sehr dicke gefalt. weiße Decke, stark aromatisch. Geruch, keine Ammoniakreakt.
26. VI.	2,95	—	
27.	2,88	13,60	
28.	2,80	25,00	
30.	2,95	24,20	
12. VII.	5,20	1,25	Starke Ammoniakreakt.

Versuch 40[2]).

5 % Glycerin-Asparagin.

Datum	Aktuelle Säure p_H	Potentielle Säure ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,38	1,75	Anfangs langsam. Wachstum, erst vom 28. ab starke Deckenbildung.
26. VI.	4,58	2,00	
27.	4,62	2,10	
28.	4,50	2,20	
8. VII.	ca. 4,40	—	

[1]) Vgl. hierzu: H. Leberle, Dissertation. Technische Hochschule München 1909.

[2]) Indicator Phenolphthalein.

In diesen 3 Versuchen ist folgendes bemerkenswert:

1. Bei Verwendung von Maltose und Glycerin tritt deutliches Ansteigen der p_{H}-Werte nach der alkalischen Seite ein, insbesondere stark fällt dies bei Verwendung von Maltose auf.

2. Bei Verwendung von Äthylalkohol dagegen findet rasch eine sehr starke Säuerung der Nährlösung statt. Da in beiden Fällen die Stickstoffquelle die gleiche war, so ist hier der Einfluß der Kohlenstoffquelle sehr schön zu erkennen. Das wird noch deutlicher durch eine Gegenüberstellung der einzelnen Säurewerte. Es bildet nämlich Mycoderma in der gleichen Zeit folgende $H^{\cdot}$-Konzentration mit Asparagin als Stickstoffquelle:

a) mit Dextrose . .	p_{H}:	2,86	(Versuch 21)	Mycoderma
b) » Maltose . .	»	4,60	(» 38)	Mycoderma valida
c) » Glycerin . .	»	4,50	(» 40)	
d) » Alkohol . .	»	2,80	(» 39)	

Der Einfluß der Kohlenstoffquelle auf den Wert der gebildeten Art von Säure ist also sehr groß. Daß in einem Fall eine andere Art von Mycoderma zur Verwendung kam als in den Versuchen 38 und 40, spielt keine so große Rolle. Jedenfalls genügt diese systematische Verschiedenheit der Versuchsorganismen nicht, um die großen Differenzen zwischen den einzelnen Säurewerten zu erklären. In unserer ersten Arbeit wurde nun der Satz gewonnen:

Bei gleicher Kohlenstoffquelle beeinflußt die Stickstoffquelle bzw. die aus ihr hervorgehenden Stoffwechsel- und Abfallprodukte den Wert der $H^{\cdot}$-Konzentration in der Nährlösung in weitgehendem Maße. Mit dem Wechsel der Kohlenstoffquelle (bei gleicher Stickstoffquelle) lassen sich nun als Ergänzung und Erweiterung der obigen Sätze die gegenseitigen Einflüsse von Kohlenstoff- und Stickstoffquelle auf den Verlauf und die Größe der Säurebildung feststellen. Dabei wird der Einfluß der Stickstoffquelle durch die von der Kohlenstoffquelle eingeleiteten enzymatischen Nebenreaktionen mehr oder weniger geändert, indem die Kohlenstoffquelle das Auftreten von Ammoniak, z. B. aus Asparagin oder Pepton, teils fördert, teils verzögert. Durch diese enzymatischen Nebenreaktionen, die mit der Säurebildung an sich gar nichts zu tun haben, wird dann der ganze Verlauf der

Säurebildung oft sehr stark geändert. Auf diese Nebenreaktionen, speziell die Ammoniakbildung, wird im folgenden besonders häufig hingewiesen werden müssen.

Aus der Berücksichtigung der beiden Sätze läßt sich also wohl erst ein tieferer Einblick in den Säurestoffwechsel gewinnen. Der Einfluß der Kohlenstoffquelle auf die Spaltung des organischen Stickstoffs zu Ammoniak kann also unter Umständen die Säurebildung mehr oder weniger verdecken. Ebenso spielt die biochemische Natur des Versuchsorganismus eine große Rolle, die hier zunächst nicht weiter erörtert werden kann.

Kurve II.

Organismus: Mycoderma valida.

Versuch 38: Maltose.
„ 39: Alcohol.
„ 40: Glycerin.
} Asparagin.

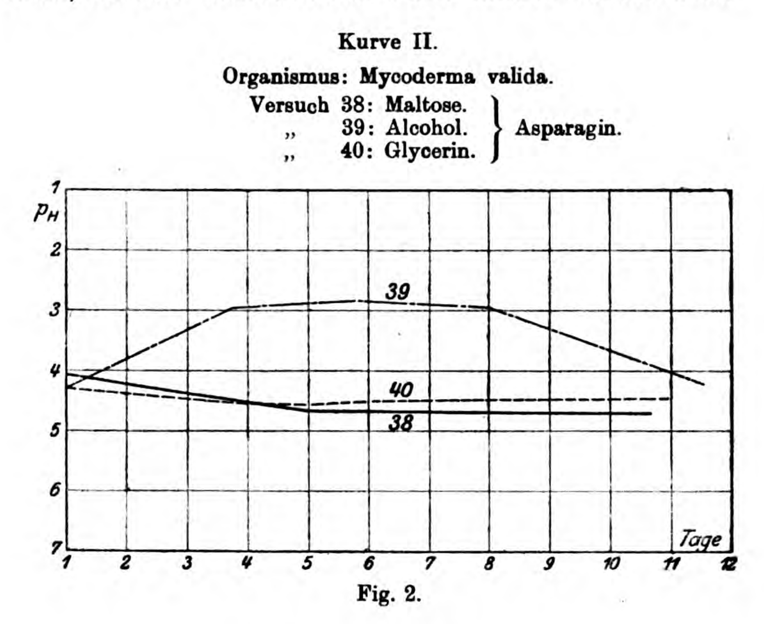


Fig. 2.

b) Versuche mit Oidium.

Wir betrachten zur weiteren Erläuterung des obigen Satzes einige vergleichende Versuche mit einem neuen Organismus, nämlich mit Oidium. Die folgende Tabelle gibt die einzelnen Werte der aktuellen Säure mit Dextrose, Saccharose, Maltose und Glycerin als Kohlenstoffquelle bei Verwendung von Asparagin als Stickstoffquelle (5 $^0/_0$ C-Quelle, 05 $^0/_0$ N-Quelle, Nährsalze wie früher, 50 ccm im 100 ccm-Erlenmeyerkolben, 23 bis 23,5 ^{0}). Versuchsbeginn bei den Versuchen 35, 36, 37 15. V. 1918 (Versuch 24 Beginn 25. V.).

	Versuch 24 (Dextrose)		Versuch 35 (Glycerin)	Versuch 36 (Saccharose)	Versuch 37 (Maltose)
			N-Quelle: Asparagin		
Datum	$p_{H'}$	Datum	$p_{H'}$	$p_{H'}$	$p_{H'}$
Kontrolle	4,07		4,43	4,73	4,35
27. V.	3,99	17. VI.	4,63	5,49	5,60
28.	3,16	18.	3,59	6,93	6,85
29.	3,38	20.	3,21	7,68	7,98
31.	3,16	21.	3,14	7,93	8,40
5. VI.	2,63	24.	3,00	—	—

Zum Vergleiche folgen hier die Werte der potentiellen Säure und Angaben über Wachstum und Ammoniakbildung in der Nährlösung. Ausgangsacidität: 2,00 ccm.

	Versuch 35 (Glycerin)	Versuch 36 (Saccharose)	Versuch 37 (Maltose)	
		N-Quelle: Asparagin		
Datum	ccm	ccm	ccm	Bemerkungen
17. VI.	2,10	2,00	1,50	$^{n}/_{10}$-KOH gegen Phenolphthalein als Indicator. Angewendet 10 n der Nährlösung.
18.	2,20	1,45	1,40	
20.	2,45	0,30	0,15	
24.	1,95	0,00	0,00	

Es folgen nun noch die Angaben über das Auftreten von Ammoniak in der Nährlösung, da gerade dieser Punkt für den Mechanismus der Säurebildung und für das Verständnis der $p_{H'}$-Werte sehr wichtig ist. Namentlich ist es sehr wichtig, den Zeitpunkt des erstens Auftretens von Ammoniak festzulegen. Geprüft wurde mit Neßlers Reagens, teilweise auch mit Magnesiumoxyd.

	Versuch 35 (Glycerin)	Versuch 36 (Saccharose)	Versuch 37 (Maltose)	
Datum				Bemerkungen
17. VI.	0	?	?	(Vermutlich +)
18.	0	++	++	Sehr starke Reaktion.
20.	0	++	++	
24.	0	++	++	

Das Wachstum ist am besten in Versuch 35; überall ist die bekannte, weiße, wolligfilzige Decke entwickelt. Nur in Versuch 35 ist ein angenehm säuerlicher Geruch wahrzunehmen. Die Ammoniakabspaltung, die nur bei Gegenwart von Saccharose und Maltose erfolgt, bedingt natürlich sowohl das rapide Fallen dieser Werte der aktuellen wie der potentiellen Säure. Äußerlich ist diese Ammoniakbildung mit einem gewissen Alter

der Kultur leicht zu erkennen, indem durch das Auftreten von Ammoniak Krystalle von Ammonium-Magnesiumphosphat in großer Menge entstehen. Diese Krystalle hängen senkrecht von der Pilzdecke in die Nährlösung hinein und bieten ein höchst eigenartiges Bild dar. Trotz der starken Alkalisierung der Nährlösung wird übrigens Oidium (in der Versuchszeit) nicht getötet, was bei anderen, starkes Alkali in großer Menge bildenden Pilzen sonst regelmäßig eintritt[1]).

Aus den vorstehenden Angaben ist nun der Einfluß der Kohlenstoffquelle auf den Wert der H˙-Konzentration in der Nährlösung klar zu erkennen. Diese Einwirkung ist, wie schon erwähnt, indirekter Natur, indem die Kohlenstoffquelle den enzymatischen Abbau der Stickstoffverbindungen zu Ammoniak in sehr verschiedenem Maße beeinflußt und so durch auftretendes Ammoniak die Säurewerte weitgehend ändern kann. So besteht zwischen Glycerin einerseits, Maltose und Saccharose anderseits eine große Differenz in ihrer Wirkungsweise auf den Stoffwechselverlauf. Bei Verwendung von Glycerin wird nämlich Asparagin nicht im Überschuß zu Ammoniak desamidiert, tritt also nicht in der Nährlösung auf, und infolgedessen kommt die im Stoffwechselverlauf gebildete Säure zur Geltung, die H˙-Konzentration steigt daher dauernd an. Dagegen wirken Saccharose und Maltose auf die Desamidierung offenbar sehr fördernd ein. Demzufolge findet sich reichlich Ammoniak in der Nährlösung vor, und die im Stoffwechselverlauf gebildete Säure wird durch das auftretende Ammoniak völlig weggefangen und kommt nicht zur Messung. Diese Unterschiede fallen hier um so mehr auf, als in Versuch 35 und 37 das Ausgangs-p_H. identisch ist und auch Versuch 36 nur wenig von den beiden sich unterscheidet. Bei Verwendung von Dextrose (Versuch 24) scheinen dieselben Verhältnisse zu existieren wie in Versuch 35; die H˙-Konzentration wird immer größer, Ammoniak scheint nicht in der Nährlösung aufzutreten, dafür sprechen auch die Werte der potentiellen Säure, die im folgenden zusammengestellt sind:

---

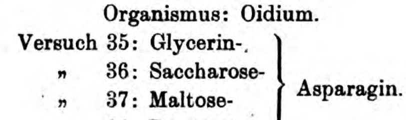
[1]) Vgl. hierzu: F. Boas in Annales mycologici 16, 1918.

Versuch 24.

Titrationswerte gegen Methylorange. 10 ccm Nährlösung verbrauchen am

27. V. . .	0,10 ccm	29. V. . .	0,40 ccm	5. VI. . .	0,70 ccm
28. . .	0,35 „	31. . .	0,60 „	10. . .	— „

Mit Oidium als Versuchspilz wirken demnach Glycerin und Dextrose säureerhaltend, Maltose und Saccharose stark alkalibildend, also säurebindend. Ihr Einfluß auf den Wert der H˙-Konzentration in der Nährlösung ist also gegensätzlich. Mit anderen Worten, Maltose und Saccharose veranlassen sofort Desamidierung des Asparagins zu Ammoniak, sie sind also sozusagen ausgesprochene Aktivatoren der Enzymbildung, während Glycerin und Dextrose in dieser Hinsicht wirkungslos sind.



Kurve III.
Organismus: Oidium.
Versuch 35: Glycerin-,
„ 36: Saccharose-
„ 37: Maltose-
„ 24: Dextrose- } Asparagin.
„ 27: Dextrose-Ammonsulfat.

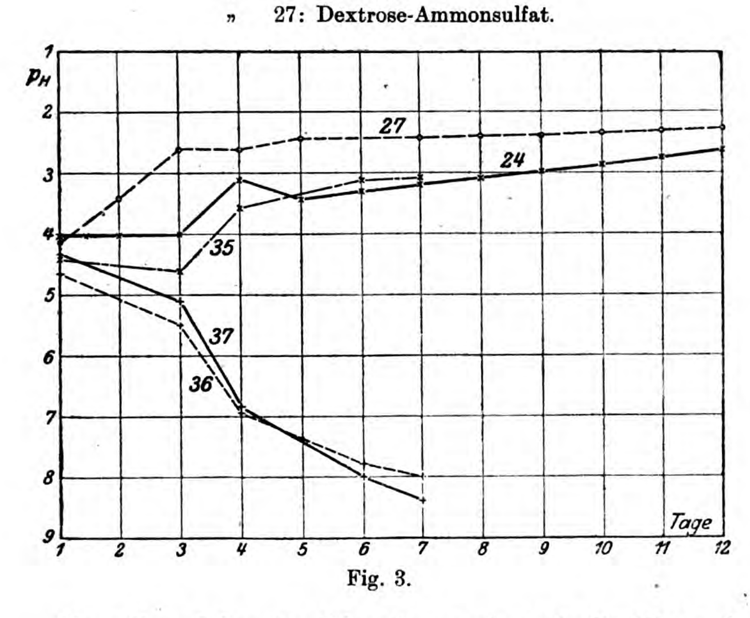


Fig. 3.

Es sollen daher im folgenden auch noch die Werte der H˙-Konzentrationen bei Verwendung dieser N-Quelle mit Glycerin, Maltose und Saccharose als Kohlenstoffquelle zur Vervoll-

ständigung des Bildes gegeben werden. (Nährlösung 0,5 % Pepton, 5 % Glycerin bzw. Maltose oder Saccharose, sonst alles wie Versuch 35 bis 37.) Es folgen zuerst die Werte der aktuellen Säure.

Datum	Versuch 32 (Glycerin-Pepton)	Versuch 33 (Saccharose-Pepton)	Versuch 34 (Maltose-Pepton)
Ausgangs-p_H	**5,30**	**5,30**	**5,47**
17. V.	5,49	5,47	5,60
18.	4,69	5,67	5,78
20.	5,22	5,95	5,98
21.	5,18	6,28	6,12
24.	3,87	—	5,94

Die Werte der potentiellen Säure verlaufen analog, wie die folgende Übersicht zeigt. Gleichzeitig ist hier das Auftreten von Ammoniak in der Nährlösung mit angegeben, da es für das Zustandekommen der p_H-Werte sehr wichtig ist.

Datum	Versuch 32 ccm	(Ammoniak)	Versuch 33 ccm	(Ammoniak)	Versuch 34 ccm	(Ammoniak)
17. V.	1,90	ø	1,85	ø	1,80	ø
18.	1,80	ø	1,65	ø	1,50	Gelbfärbung
20.	1,90	ø	1,60	Spur	1,70	„
21.	—	ø	—	„	—	„
24.	2,40	ø	1,20	+	1,40	+

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich dasselbe Bild, wie wir es aus den Versuchen 35 bis 37 kennen lernten. Bei Verwendung von Glycerin findet langsam Säurebildung statt, Ammoniak tritt in der Nährlösung nicht auf, bei Verwendung von Maltose und Saccharose dagegen überwiegt offenbar die Alkalibildung die Produktion an Säure. Ammoniak tritt sicher gegen den Schluß der Versuche auf. Doch sind die Differenzen nicht so scharf wie in der Versuchsreihe 35 bis 37, es ist aber immerhin dasselbe Bild zu erkennen.

Zum Abschluß der Versuche mit Oidium sei noch eine Reihe mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle angeführt, um zu zeigen, wie weit bei diesem Pilz die Säuerung im Gegensatz zu Asparagin gehen kann. Als Kohlenstoffquelle diente Dextrose (50 ccm im 100 ccm-Kolben, Temperatur 22 bis 23°).

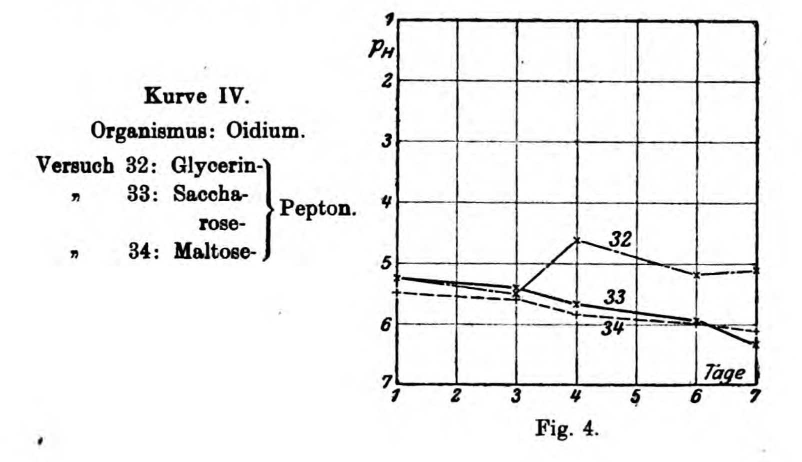
Versuch 27.

Versuchsbeginn 23. V. 1918.

Datum		Aktuelle Säure (p_H)	Potentielle Säure gegen Methylorange ccm	Bemerkungen
25. V.	Kontrolle	4,12	—	
27.		2,59	1,10	
28.		2,59	1,15	
29.		2,45	1,50	
31.		2,47	1,70	
5. VII.		2,27	2,00	Zucker völlig
10.		2,45	—	verbraucht.

Im Vergleich mit Versuch 24 ergibt sich, daß die Säuerung schon innerhalb 48 Stunden fast ihren Maximalwert erreicht und im weiteren Verlauf nicht allzu viel Säure mehr gebildet wird als bei Verwendung von Asparagin, nämlich p_H 2,27 mit Ammonsulfat gegen p_H 2,63 bei Verwendung von Asparagin (Versuch 24). Doch ist der Einfluß der Stickstoffquelle immerhin noch recht gut erkennbar. Zusammenfassend liegen demnach die Wasserstoffkonzentrationen für Oidium je nach Kohlenstoff- und Stickstoffquelle bei folgenden maximalen Werten:

p_H			Ausgangs-p_H	Versuch
2,27	(Dextrose-Ammonsulfat)		4,12	27
2,63	„ -Asparagin		4,07	24
3,87	Glycerin-	Pepton	4,43	35
ca. 6,00	Saccharose-	Pepton	4,73	36
„ 6,00	Maltose-	Pepton	4,35	37
„ 3,00	Glycerin-	Asparagin	5,30	32
„ 8,00	Saccharose-	Asparagin	5,30	33
8,40	Maltose-	Asparagin	5,47	34



Kurve IV.
Organismus: Oidium.
Versuch 32: Glycerin-, „ 33: Saccharose-, „ 34: Maltose- } Pepton.

Fig. 4.

Bei einer H'-Konzentration von $p_{H'}$ 8,40 ist Oidium noch nicht tot, dagegen liegen bei $p_{H'}$ 2,27 bereits Anzeichen einer beginnenden Selbstvergiftung durch Schwefelsäure vor, indem die Decken durchbrechen und die Zellen blasig werden. Vgl. hierzu Kurve IV.

c) Versuche mit Aspergillus niger.

Es erübrigt sich nun, einen Organismus hinsichtlich seines Säurebildungsvermögens zu untersuchen, der physiologisch ganz anders wirksam ist als Mycoderma und Oidium, um für Organismen der verschiedensten physiologischen Wirkungsarten die oben angeführten Sätze zu erhärten und so zu einem möglichst allgemein gültigen Resultat zu gelangen. Daher seien hier noch einige Versuchsreihen mit dem infolge seiner Oxalsäurebildung stark säuernden Aspergillus niger angeführt. Als Stickstoffquelle diente 0,5 % Asparagin, die Kohlenstoffquelle wurde wie üblich in einer Konzentration von 5 % angewendet. Temperatur 32,5 bis 33°. (Alle anderen Bedingungen wie bei den früheren Versuchen.)

Es wurden folgende H'-Konzentrationen gemessen:

Versuchsbeginn: 8. V. 1918.
N-Quelle: Asparagin.

Datum	Versuch 28 (Glycerin)	Versuch 29 (Dextrose)	Versuch 30 (Maltose)	Versuch 31 (Saccharose)
	Aktuelle Säure ($p_{H'}$)			
	Kontrolle 4,34	3,43	5,02	4,18
10. VI.	—	2,84	2,62	2,48
11.	4,78	2,59	2,72	2,31
12.	4,27	2,53	2,72	2,29
14.	4,17	5,15	4,02	2,77
17.	3,64	6,13	5,29	4,90

Mit diesen Zahlen vergleiche man die Werte der potentiellen Säure (gegen Methylorange als Indicator) und das Auftreten von Ammoniak in der Nährlösung der folgenden Übersichten.

Datum	Versuch 28 ccm	Versuch 29 ccm	Versuch 30 ccm	Versuch 31 ccm
10. VI.	0,00	0,95	1,30	3,00
11.	0,00	2,00	1,30	3,40
12.	0,00	1,55	0,95	3,00
13.	0,65	—	—	1,60
14.	0,30	0,10	0,200	0,95

Das Auftreten von Ammoniak in der Nährlösung ist seiner Wichtigkeit wegen für das Verständnis der Säurewerte in der folgenden Übersicht zusammengestellt:

Datum	Versuch 28 (Glycerin)	Versuch 29 (Dextrose)	Versuch 30 (Maltose)	Versuch 31 (Saccharose)
10. VI.	Spur	0	0	0
11.	++	0	Spur	0
12.	++	Spur	+	0
13.	nicht unter-	+	+	Spur
14.	sucht, zweifel-	++	++	+
17.	los ++	++	++	++

Dementsprechend ist auch die Farbe der Nährlösung und der Deckenunterseite:

Versuch 29: Nährlösung tief braungelb } Pilzdecken unten gelb-
„ 30: „ gelb } lichtbraun.
„ 31: „ kaum gefärbt Pilzdecke unten weiß.

So zeigt sich also allenthalben der Einfluß der Kohlenstoffquelle. In der folgenden Kurvenzusammenstellung tritt der Einfluß der Kohlenstoffquelle sehr stark hervor.

Kurve V.

Organismus: Aspergillus niger.

Versuch 28: Glycerin- }
„ 29: Dextrose- } Asparagin.
„ 30: Maltose- }
„ 31: Saccharose- }
„ 25: Dextrose-Ammonsulfat.

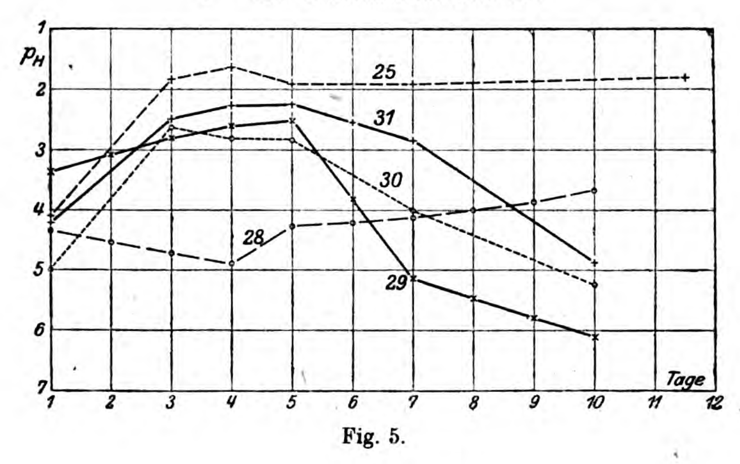


Fig. 5.

Es wirkt bei Verwendung von Aspergillus niger: Glycerin stark ammoniakbildend, säurebindend, Maltose nur wenig schwächer säurebindend, Dextrose bereits geringer säurebindend; Saccharose aber infolge spät einsetzender Asparaginspaltung geradezu säureerhaltend. Es besteht also hier eine gewisse Gegensätzlichkeit in der Auslösung der enzymatischen Asparaginspaltung zwischen Saccharose einerseits und Glycerin, Maltose und Dextrose andererseits.

Bei Verwendung von Dextrose und Maltose wird weniger aktuelle und potentielle Säure gebildet als mit Saccharose, außerdem tritt früher Ammoniak in der Nährlösung auf. Es ist also auch in der Förderung der Ammoniakbildung ein bemerkenswerter Einfluß der Kohlenstoffquelle vorhanden. Im Gegensatz zu Oidium (Versuch 24, 35 bis 37) ist hier eine direkte Gegensätzlichkeit der Zuckerwirkung nicht zu erkennen, doch tritt hinsichtlich der Schnelligkeit des Auftretens von Ammoniak in der Nährlösung folgende Anordnung im Sinne einer steigenden Ammoniakbildung ein: Saccharose, Dextrose, Maltose, Glycerin, während wir bei Oidium fanden, daß Glycerin überhaupt keine Ammoniakbildung, Maltose und Saccharose eine sehr starke veranlassen. Doch wirkt auch hier Saccharose etwas langsamer als Maltose. Bei Aspergillus niger ist der Unterschied zwischen Maltose und Saccharose viel stärker ausgeprägt. Saccharose wirkt also im allgemeinen säureerhaltend. Um ein vollständiges Bild des ganzen Chemismus der Säurebildung bei Aspergillus niger zu geben, folgt hier nun noch eine Übersicht über die Erntegewichte.

Denn erst durch Vergleichen aller Einzelheiten der Werte der aktuellen und potentiellen Säure, des positiven Ausfalls der Neßler-Reaktion auf Ammoniak und der Schnelligkeit des Wachstums, können die einzelnen Zahlen richtig gegenseitig abgeschätzt und verwertet werden. Zur Feststellung der folgenden Erntegewichte wurden die Pilzdecken mit Aq. dest. gewaschen, mit frischem Filtrierpapier abgepreßt, bei 105° 2 Stunden lang getrocknet und (nach dem Erkalten im Exsiccator) gewogen.

Gerade in diesen Erntegewichtszahlen prägt sich der Einfluß der Kohlenstoffquelle und der H˙-Wirkung außerordentlich scharf aus.

N-Quelle: Asparagin.

Datum	Versuch 28 (Glycerin) g	Versuch 29 (Dextrose) g	Versuch 30 (Maltose) g	Versuch 31 (Saccharose) g
10. VI.	0,0350 viel Konidien	0,412 weiße Decke	0,807 viel Konidien	0,539 weiße Pilzdecke
11.	0,153	0,202 weiße Decke	0,172	0,820
12.	0,370	1,331	1,270	1,310
13.	0,815	—	—	1,321
14.	0,920	1,391	1,155	1,280
17.	1,075	0,901	0,940	0,965

Zur Vervollständigung des Bildes der Säureproduktion des Aspergillus niger und zur Erhärtung unseres Satzes der ersten Arbeit, daß kein Organismus sich ein H·-Optimum schaffen kann, sondern von der Zusammensetzung der Nährlösung abhängig ist, seien noch 2 Versuche mit Aspergillus niger mit Dextrose als Kohlenstoff- und Ammonsulfat bzw. Asparagin als Stickstoffquelle angeführt. Bedingungen wie bei den Versuchen 28 bis 31. Versuchsbeginn 25. V. 1918.

Versuch 25[1]).

Dextrose-Ammonsulfat.

Datum	Aktuelle Säure (p_{H}·)	Potentielle Säure gegen Methylorange ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,12	—	
27. V.	1,84	5,20	Schneeweiße Decke, also keine Spur von Konidienbildung.
28.	1,68	7,10	
29.	1,91	7,00	
31.	1,93	5,05	
5. VI.	1,81	4,00	

Versuch 26.

Dextrose-Asparagin.

Datum	Aktuelle Säure p_{H}·	Potentielle Säure[2]) ccm	Bemerkungen
Kontrolle	4,07	—	
27. V.	2,69	1,55	Schwarze Decke, also reichlich Konidienbildung.
28.	2,33	2,30	
29.	2,45	2,90	
31.	4,44	0,30	
5. VI.	4,47	—	
10.	7,12	—	

[1]) Vgl. hierzu: C. Wehmer, diese Zeitschr. 59, 63ff., 1914. Hier finden sich einige Messungen der im Stoffwechsel erzeugten potentiellen Säure, allerdings erst vom 9. Tage an. Daselbst auch weitere Literatur.

[2]) Methylorange als Indicator.

Die Abhängigkeit der Säurebildung von der Stickstoffquelle bei gleicher Kohlenstoffquelle ist sehr deutlich, dann aber zeigt der Versuch 26, daß nach Erreichung des Säuremaximums mit $p_H \cdot 2,33$ sehr rasch eine beträchtliche Säureabnahme eintritt, während bei Verwendung von Ammonsulfat dies viel langsamer stattfindet. Diesen starken Umschlag zeigt Versuch 26 besonders deutlich, die Übereinstimmung mit den Versuchen 29 bis 31 ist vollkommen. Bei Aspergillus niger werden nach den vorliegenden Versuchen je nach der Kohlen- und Stickstoffquelle folgende maximale Werte der Wasserstoffionenkonzentration im Verlaufe der Stoffwechseltätigkeit gebildet.

$p_H \cdot$	1,68	Dextrose-Ammonsulfat	(Versuch 25)
„	2,29	Saccharose-Asparagin	(„ 31)
„	2,33	Dextrose- „	(„ 26)
„	2,62	Maltose- „	(„ 30)
„	3,64	Glycerin- „	(„ 28)

Der Zeitpunkt des Vorhandenseins der maximalen Säure ist ebenfalls sehr verschieden, namentlich bei

Dextrose	am	3. Tag	(Versuch 26, 26)
Glycerin	„	5. „	(„ 28)
Maltose	„	2. „	(„ 30)
Saccharose	„	4. „	(„ 31)

Es liegen die einzelnen Säurewerte bei gleicher Stickstoffquelle, wie obige Zusammenstellung zeigt, erkennbar auseinander. Der Einfluß der Kohlenstoffquelle kann, da bei Verwendung von Asparagin nur Oxalsäure gebildet wird und diese Säure im Gegensatz zu den Mineralsäuren nur schwach dissoziiert ist, nur zu geringen Differenzen führen. Dies ist ja theoretisch zu erwarten. Diese möglichen geringen Unterschiede lassen sich aber doch ganz deutlich auch in der Größe der $H^{\cdot}$-Konzentration erkennen, insofern, als die Werte zwischen 2,29 bis 3,64 auseinanderliegen. Schärfer treten diese Unterschiede allerdings erst dann hervor, wenn wir auch die übrigen Werte wie Erntegewichte, Ammoniak- und Konidienbildung mit vergleichen.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

Kohlenstoff- und Stickstoffquelle wirken hinsichtlich des Wertes und des Verlaufs der $H^{\cdot}$-Konzentration während der Stoffwechselvorgänge folgendermaßen zusammen:

Mit Ausnahme der Ammonsalze starker Säuren entsteht die Hauptmenge der Säure aus der Kohlenstoffquelle. Bei Verwendung von Ammonsalzen starker Säuren unterdrückt die aus der Stickstoffquelle stammende starke Säure jede Säurebildung aus der Kohlenstoffquelle. In allen anderen Fällen findet nun folgende Wechselwirkung zwischen Kohlenstoff- und Stickstoffquelle statt. Die Kohlenstoffquelle veranlaßt früher oder später den enzymatischen Abbau der Stickstoffquelle zu alkalisch reagierenden Substanzen, besonders Ammoniak. Durch diese Auslösung der früheren oder späteren Ammoniakbildung kann je nach der spezifischen Wirkung der Kohlenstoffquelle und des Versuchsorganismus der ganze Chemismus der Säurebildung weitgehend verändert werden. Bei den vorliegenden Organismen ist diese Wechselbeziehung der Einwirkung der Kohlenstoff- und Stickstoffquelle sehr deutlich bei Oidium und Aspergillus niger zu erkennen. Es wirkt nämlich bei Oidium: Glycerin und Dextrose säureerhaltend, Maltose und Saccharose säurebindend infolge schneller Asparaginspaltung zu Ammoniak, bei Aspergillus niger: Glycerin säurebindend, wenn auch nur langsam, Saccharose mäßig säureerhaltend, Dextrose und Maltose stark säurebindend durch starke Förderung der Asparaginspaltung zu Ammoniak.

Die Wirkung der Kohlenstoffquelle auf die Stickstoffquelle ist demnach auch von Organismus zu Organismus verschieden.

Bemerkung zu der Arbeit von Joh. Feigl, diese Zeitschr. Bd. 88, S. 53 bis 84, 1918.

Von

A. Bornstein in Hamburg-St. Georg.

(Eingegangen am 30. Juli 1918.)

Die genannte Arbeit kommt mir erst heute zufällig zu Gesicht, da es mir bei der Truppe unmöglich ist, die Literatur zu verfolgen. Der Verfasser macht mir darin mehrfach den Vorwurf, als hätte ich im Gegensatz zu Peritz bei meinen Versuchen am Blute von Geistes- und Nervenkranken versäumt, neben dem Lecithingehalt des Serums auch die Fettmenge (den Ätherextrakt) zu bestimmen. Ich möchte diese Behauptung zurückweisen, wenn ich auch in den meisten Fällen die erhaltenen Zahlen nicht angegeben und nicht diskutiert habe, da mir die Resultate zu vieldeutig schienen. Immerhin finden sich z. B. in meiner Versuchsreihe bei multipler Sklerose[1]) auch zahlenmäßige Angaben über den Fettgehalt des Serums veröffentlicht.

Im übrigen freut es mich, daß Feigl in seiner großzügig angelegten Arbeit mit neueren Methoden die alten Befunde von Peritz und von mir im wesentlichen bestätigt und weiter ausgeführt hat.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. **36**, 1913.

Zur Kenntnis komplexer Eisensalze I.

Von

Oskar Baudisch.

(Aus dem Strahlen-Forschungsinstitut am Eppendorfer Krankenhaus, Hamburg.)

(*Eingegangen am 2. August 1918.*)

C. Neuberg[1]) hat in erster Linie in zahlreichen Arbeiten darauf aufmerksam gemacht, daß nicht-lichtempfindliche Verbindungen des tierischen und pflanzlichen Organismus bei Anwesenheit von anorganischen Salzen, insbesondere von Eisensalzen, ausgesprochene Photosensibilität erlangen. Diese übertragen die Lichtenergie, indem sie an der Luft Sauerstoff aufnehmen und ihn im Licht an die organischen Substrate, die Lichtreceptoren, abgeben. Es liegt — wie Neuberg zeigte — eine Übertragungskatalyse vor infolge des ständigen, vom Licht betriebenen wechselseitigen Übergangs Oxydul $\rightleftarrows$ Oxyd.

Über die Bindungsart des Eisens mit dem organischen Substrat, über die Form, in der das Eisen zur Wirkung gelangt, ob als freies Eisenion oder als ein Eisenkomplexion[2]), ist meines Wissens bisher nichts bekannt geworden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich in erster Linie mit der Frage, unter welchen Umständen sowohl maskierte Eisenatome als auch freie Eisenionen aus der Oxyd- in die Oxydulform und umgekehrt überführt werden, und welches die Bedingungen sind, damit ein derartiger Wechsel leicht eintreten kann.

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **17**, 270, 1908; **27**, 279, 1910; **39**, 158, 1912; **61**, 315, 1914. Ferner „Beziehungen des Lebens zum Licht", Monogr., Berlin 1913, Allgem. Med. Verlagsanstalt.

[2]) „Eisenkomplexion" im Sinne der Wernerschen Anschauung über Metallkomplexsalze.

Die gewöhnlichen Salze des zweiwertigen Eisens sind bekanntlich sehr unbeständig und gehen in neutraler, besonders aber in alkalischer Lösung schon an der Luft sehr leicht in solche des dreiwertigen Eisens über.

Ganz anders verhalten sich gewisse Komplexsalze, wie z. B. die $\alpha\alpha$-Dipyridyl- und α-Phenantrolinverbindungen des Eisens, die gerade in der zweiwertigen Form beständig sind, so daß die dreiwertige Form nur unter bestimmten Vorsichtsmaßregeln festzuhalten ist. Die Selbstreduktion findet besonders leicht unter dem Einfluß des Lichtes statt.

Es wurde gefunden, daß auch die komplexen Eisensalze des Formaldoxims, Brenzcatechins, Resorcins und Phloroglucins beim Stehen an der Luft aus den dreiwertigen leicht in den zweiwertigen Zustand übergehen.

Versetzt man eine verdünnte wäßrige Formaldoximlösung mit einigen Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung, so entsteht zuerst eine intensiv rote Färbung, die beim Stehen allmählich verblaßt. Während direkt nach dem Mischen der beiden Lösungen auf Zusatz von Soda zu der tiefroten Lösung rotbraunes Ferricarbonat ausfällt, bildet sich bei der mehrere Stunden gestandenen und aufgehellten Flüssigkeit mit Soda ein olivgrüner Niederschlag von Ferrocarbonat, der beim Schütteln mit Luft rotbraun gefärbt wird. Die gestandene aufgehellte Flüssigkeit reduziert alkalische Methylen- oder Capriblaulösung in der Kälte intensiv, was die ursprüngliche Lösung nicht tut. Beim Schütteln mit Luft wird die entfärbte Lösung wieder intensiv blau.

Formaldoxim entfärbt in sodaalkalischer Lösung Methylenblau nur beim Erhitzen. Weder Soda allein, noch Formaldoximlösung entfärben Methylenblaulösung beim Kochen.

Ganz ähnlich wie Formaldoxim verhalten sich wäßrige Lösungen von Phloroglucin, Brenzcatechin und Resorcin. Eine wäßrige Phloroglucinlösung wird auf Zusatz von Eisenchlorid tiefrot gefärbt. Die Farbe verblaßt beim Stehen zu hellbraunrot. Diese Lösung reduziert im Gegensatz zu der ursprünglichen Flüssigkeit Methylenblau in alkalischer Lösung intensiv. Soda fällt grünes Ferrocarbonat, das beim Schütteln mit Luft zur rotbraunen Ferriverbindung oxydiert wird. Die hellbraunrote, schwach salzsaure Lösung bleibt auch unverän-

ändert, wenn man Sauerstoff durchleitet, d. h. sie verliert ihr starkes Reduktionsvermögen nicht.

Die wäßrige, tiefgrün gefärbte Brenzcatechin-Eisenchloridlösung verblaßt bei längerem Stehen (24 Stunden) ebenfalls. Auf Zusatz von Soda tritt sofort die bekannte intensiv rote Färbung auf. Diese rote Lösung reduziert Methylen- und Capriblau ebenfalls in der Kälte, und man kann besonders bei letzterem Farbstoff beim Schütteln mit Luft wieder eine Bläuung konstatieren. Belichtet man die tiefgrüne Brenzcatechin-Eisenchloridlösung, so tritt starke Entfärbung derselben und Reduktion des dreiwertigen Eisens, ein. Ganz ähnlich verhält sich eine blaue Resorcin-Eisenchloridlösung. Auch hier tritt beim 24 stündigen Stehen an der Luft und besonders beim Erwärmen Entfärbung zu gelb oder gelbbraun ein, und diese Lösung reduziert nun schon in der Kälte sodaalkalische Methylenblaulösung intensiv. Beim Schütteln mit Luft wird das Ganze wieder blaugrün gefärbt. Capriblau wird in sodaalkalischer Resorcinlösung beim Erwärmen auch ohne Eisen entfärbt.

Eine wäßrige Lösung von Hydrochinon und Eisenchlorid ist nur ganz schwach gelblich gefärbt. Läßt man die Mischung wie beim Brenzcatechin- oder Resorcinversuch 24 Stunden an der Luft stehen und versetzt hierauf mit alkalischer Methylenblaulösung, so tritt keine Reduktion — also keine Entfärbung — ein.

Es verhält sich somit das Hydrochinon, das nicht befähigt ist, innere Metallkomplexsalze mit Eisen zu bilden, den beiden Isomeren gegenüber ganz anders. Man muß daraus schließen, daß die leichte Reduzierbarkeit des Ferrieisens zur Ferroverbindung mit der Komplexsalzbildung in einem genetischen Zusammenhang stehen muß, worauf später noch zurückgekommen wird.

Es wurden weiter die wäßrigen Lösungen der komplexen Eisensalze des Acetylacetons, des Acetessigesters, des Salicylaldehyds, der Salicylsäure und Brenzcatechin-o-carbonsäure näher unsersucht. Die wäßrige Lösung von Acetylaceton färbt sich mit Eisenchlorid intensiv rot; es tritt beim Erhitzen oder Stehenlassen kein Verblassen der Lösung ein. Auf Zusatz von Soda wird die tiefrote Lösung hellgelb, sie reduziert aber Methylenblaulösung nicht.

Belichtet man hingegen die wäßrige tiefrote Acetylaceton-Eisenchloridlösung unter Wasserkühlung mit Quecksilber oder Sonnenlicht, so tritt bei Quecksilberlicht schon nach zweistündiger Bestrahlung vollkommene Entfärbung ein. Die farblose Lösung reduziert sodaalkalische Methylenblaulösung intensiv schon in der Kälte und wird beim Schütteln mit Luft wieder tiefblau.

Acetylaceton entfärbt sodaalkalische Methylenblaulösung auch ohne Eisen beim Erhitzen genau wie Formaldoxim.

Ganz ähnlich wie Acetylaceton verhält sich Acetessigester. Die wäßrige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid tiefrot und entfärbt sich nicht beim Erhitzen. Diese Lösung gibt in der Kälte keine Reduktionsreaktionen. Belichtet man hingegen mit Quecksilber- oder Sonnenlicht, so tritt vollkommene Entfärbung ein, und das Eisen ist aus dem dreiwertigen in den zweiwertigen Zustand übergegangen. Mit Soda fällt grünes Ferrocarbonat aus, und Methylenblaulösung wird in der Kälte entfärbt und beim Schütteln mit Luft wieder blau.

Ebenso verhält sich eine wäßrige, mit Eisenchlorid versetzte Salicylaldehydlösung, die ebenfalls durch Licht entfärbt wird und dann alkalisches Methylenblau in der Kälte intensiv reduziert, was die ursprüngliche Lösung nicht tut.

Wäßrige Salicylsäure und Brenzcatechin-o-Carbonsäurelösungen geben mit Eisenchlorid die bekannten intensiven Färbungen, die beim Stehen oder Erwärmen der Lösungen beständig sind. Sie reduzieren ebenfalls alkalische Methylenblaulösung nicht.

Werden aber diese Lösungen mit Quecksilberlicht intensiv bestrahlt, so verändert sich die Salicylsäurelösung äußerlich nicht, während Brenzcatechin-o-Carbonsäure von tiefblau nach schmutziggrün verfärbt wird. Die bestrahlte violette Salicylsäurelösung enthält aber ebenfalls zweiwertiges Eisen, denn sie reduziert energisch sodaalkalische Methylenblaulösung. Durch Schütteln mit Luft wird die entfärbte Lösung wieder blau.

Die violette bestrahlte Lösung wird durch Alkali gelbgrün gefärbt.

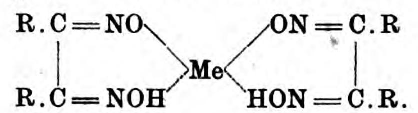
Die bestrahlte Brenzcatechin-o-carbonsäurelösung wird auf Zusatz von Soda tiefrot gefärbt und reduziert Methylenblau-

lösung momentan. Beim Schütteln mit Luft konnte jedoch keine Bläuung beobachtet werden.

Es wurde ferner das Eisensalz des Dimethylglyoxims in die Untersuchungsreihe einbezogen.

Eine wäßrige Dimethylglyoximlösung färbt sich mit Eisenchlorid weinrot. Weder beim Stehen noch beim Kochen der Lösung tritt Verfärbung auf. Diese gestandene oder erhitzte Lösung reduziert alkalische Methylenblaulösung nicht. Belichtet man die weinrote Lösung, so tritt zwar nach intensiver Bestrahlung mit Quecksilberlicht Aufhellung zu weingelb auf, aber trotzdem wird von dieser bestrahlten Lösung alkalische Methylenblaulösung nicht entfärbt.

Wir ersehen aus dem bisherigen experimentellen Befund, daß sich die wäßrigen eisenchloridhaltigen Lösungen des Formaldoxims, Phloroglucins, Brenzcatechins und Resorcins gegenüber den Lösungen des Hydrochinons, Acetylacetons, Acetessigesters, Salicylaldehyds und der Salicyl- und Brenzcatechin-o-carbonsäure verschieden verhalten. Die ersteren reduzieren das dreiwertige Eisen schon beim Stehen an der Luft in schwach salzsaurer Lösung (wässerige Eisenchloridlösungen enthalten immer geringe Mengen freier Säure) zu zweiwertigem Eisen, während bei den anderen Verbindungen diese Reduktion erst durch starke Bestrahlung mit Quecksilber oder Sonnenlicht ausgelöst wird. Dagegen verhält sich die eisenchloridhaltige wäßrige Dimethylglyoximlösung gegenüber allen diesen Verbindungen verschieden, denn hier ist auch bei Bestrahlung der dreiwertige Zustand stabil. Die innerkomplexen Metalldioxime sind nach A. Werner folgendermaßen zu formulieren:



Das Metallatom ist durch Haupt- und Nebenvalenzen ringförmig gebunden und hat dadurch seine charakteristischen Eigenschaften verloren.

Die inneren Komplexsalze des Formoxims $H_2C=NOH$ unterscheiden sich nach K. A. Hofmann[1]) von denen des Dimethylglyoxims durch das Fehlen typischer Valenzverbin-

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **46**, 1457.

dungen zwischen je zwei Kohlenstoffatomen. Das von Hofmann dargestellte komplexe Ferri-Natriumsalz hat folgende Zusammensetzung $[Fe(ON:CH_2)_5H_2O)Na_2]$. Warum gerade bei den Eisensalzen des $\alpha\alpha$-Dipyridils $[Fe(C_{10}H_8N_2)_3]Br_2 + 6H_2O$, des α-Phenantrolins $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]Br_2 + 7H_2O$, des Brenzcatechins $[Fe(C_6H_4O_2)_3]H_3$, Resorcins und Phloroglucins Selbstreduktion eintritt, läßt sich vorderhand noch nicht erklären. Auffallend ist immerhin die Tatsache, daß das dem Formaldoximeisen nach K. A. Hofmann ganz ähnlich gebaute Dimethylglyoximeisen so außerordentlich stabil gegenüber diesem ist. Es scheint, als ob die am doppelt gebundenen Kohlenstoff befindlichen Wasserstoffatome des Formaldoxims $H_2C=NOH$ für die reduzierenden Eigenschaften in erster Linie verantwortlich zu machen sind, da beim Dimethylglyoxim diese Wasserstoffatome fehlen:

$$\begin{array}{l} H_3C.C=NOH \\ \quad\;\; | \\ H_3C.C=NOH. \end{array}$$

Das Lockerwerden der am doppelt gebundenen Kohlenstoff befindlichen Wasserstoffatome läßt sich durch die Ammonisierung des einen Stickstoffatoms rechtfertigen, was symbolisch folgendermaßen ausgedrückt werden soll:

$$\begin{array}{l} \quad H_2C=NO\diagdown \\ \qquad\qquad\qquad\quad >Fe< \\ H\diagdown \qquad\quad\;\, \diagup \\ \quad >C=N \\ H\diagup \;\; \downarrow \quad | \\ \qquad\qquad\;\; OH. \end{array}$$

Ich habe früher gezeigt, daß durch Ammonisierung des Formaldoximstickstoffs das vorher verhältnismäßig stabile Molekül außerordentlich labil wird, was symbolisch folgendermaßen ausgedrückt wurde:

$$CH_2=N.OH \xrightarrow{KOH} \left(\begin{array}{l} \qquad\;\; O.....K \\ \quad\;\; \dot{} \\ {H \atop H}{:}C{:}\dot{N} \\ \qquad\;\; H \end{array} \right) OH.$$

Bei den Salzen des Brenzcatechins, Resorcins und Phloroglucins ist dagegen das Eisenatom mit Nebenvalenzen an ein Phenol-Sauerstoffatom gebunden, wodurch dieses sich dem vierwertigen Zustand nähert und ähnlich wie ein ammoni-

siertes Stickstoffatom auf das benachbarte Kohlenstoffatom einwirkt, d. h. die daran gebundenen Wasserstoffatome reaktionsfähiger macht. Bei dem nicht zur Innerkomplexsalzbildung befähigten Hydrochinon bleibt auch, wie anfangs erwähnt, Selbstreduktion aus.

Aus den bisherigen Ausführungen ersieht man, daß komplex gebundenes dreiwertiges Eisen in bestimmten Verbindungen (Brenzcatechin, Phloroglucin u. a. m.) in ganz schwach salzsaurer Lösung durch Selbstreduktion in den zweiwertigen Zustand übergeht. Diese Verhältnisse kehren sich direkt um, wenn man anstatt sauere schwach alkalische Lösungen an der Luft stehen läßt. Eine alkalisch gemachte 2 $^0/_0$ige Formaldoximlösung, die wenig Ferrosulfat enthält, nimmt aus der Luft begierig Sauerstoff auf und oxydiert sich zur Ferriverbindung.

Die zweiwertigen farblosen Eisenverbindungen des Brenzcatechins nehmen in alkalischer Lösung unter tiefroter Färbung und Übergang in den dreiwertigen Zustand aus der Luft begierig Sauerstoff auf, wodurch sie nach Weinland und Binder[1]) als ausgezeichnetes Farbenreagens für den Nachweis von Spuren von Sauerstoff Verwendung finden können. Wir ersehen somit, daß ein und dieselben Verbindungen — je nachdem sie in saurer oder alkalischer Lösung das Eisenatom komplex binden — sich ganz verschieden verhalten können. Diese Tatsache dürfte pflanzenphysiologisch von besonderem Interesse sein, da der Pflanzensaft je nach Tageszeit, Temperatur und Belichtung sauer, neutral oder alkalisch reagieren kann[2]). Aus meinen früheren Arbeiten geht aber hervor, daß auch in alkalischer Lösung der dreiwertige Zustand des komplex gebundenen Eisenatoms in den zweiwertigen übergeführt werden kann. Sind in der alkalischen Lösung des komplexen Eisensalzes gleichzeitig autoxydable Verbindungen anwesend, oder ist die Verbindung, die das Eisen maskiert ge-

[1]) Diese Zeitschr. 45, 148ff., 1912.

[2]) In diesem Zusammenhang muß hier besonders die wichtige Arbeit von C. Neuberg u. W. H. Peterson „Über die Bildung von Alkalicarbonat mit neutralen Salzen im Licht" (mittels Eisen-, Mangan- und Uransalzen sowie Anthracenderivaten, diese Zeitschr. 67, 63, 1914, erwähnt werden. — Siehe auch die Arbeit von O. Baudisch: „Über die Bildung von Alkalicarbonat mit Nitraten oder Nitriten durch Lichtenergie". Habilitationsschrift Zürich 1911 S. 4.

bunden enthält, selbst autoxydabel, so wird das Ferriatom — höchstwahrscheinlich durch die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd — vorübergehend in die Ferroform übergeführt.

Da autoxydable, zur Komplexsalzbildung mit Eisen befähigte Verbindungen in der Pflanzenwelt außerordentlich verbreitet sind, so darf man annehmen, daß derartige Reduktionsprozesse für die chemischen Umwandlungen in der Pflanze, und ganz besonders für die Atmung, von großer Wichtigkeit sein dürften. In der von Sauerstoff umspülten Pflanze ist es leicht, Oxydationsprozesse aufzufinden, dagegen ist die Art und Weise der Reduktionsvorgänge noch im großen und ganzen recht unbekannt. Es ist ferner anzunehmen, daß das Eisen in der Pflanze nicht nur in komplexer Form als Oxydations- und Reduktionsmittel eine wichtige Rolle spielt, sondern daß auch Eisenionen zu dieser Arbeit herangezogen werden. Aus demnächst erscheinenden Arbeiten „Über Nitrat und Nitratassimilation" geht hervor, daß Nitrate durch Ferrohydroxyd nur in Gegenwart von Sauerstoff in Nitrite übergeführt werden, die sich durch die Gegenwart überschüssigen Ferrohydroxyds weiter glatt zu Ammoniak reduzierten.

Da aber bekanntlich gewöhnliche Ferrisalze ($FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$ usw.) auch oxydierend wirken können (Abbau der α-Oxysäuren ⟶ Aldehyde, Indoxyl ⟶ Indigo usw.), so ersieht man, daß die in wäßriger Lösung ionisierten, gewöhnlichen Eisensalze ebenfalls sowohl reduzierende als auch oxydierende Wirkung auslösen können. Es ist mit ziemlicher Sicherheit anzunehmen, daß in den Pflanzen alle Übergänge von den gewöhnlichen praktisch vollständig ionisierten Eisensalzen bis zu den extremsten inneren Metallkomplexsalzen vorkommen werden, in denen das Eisenatom sowohl in saurer als auch in alkalischer Lösung durch die bekannten Eisenionenreagenzien nicht mehr nachweisbar ist. Da aus meinen früheren Versuchen zu ersehen ist, daß auch die Aldo- und Ketohexosen mit Eisen innere Metallkomplexsalze bilden, ist das Studium aller dieser Eisenverbindungen auch vom pflanzenphysiologischen Standpunkt aus in den Vordergrund des Interesses gerückt. Durch die hervorragenden Untersuchungen von Weinland[1])

---

[1]) Ber. 45, 148ff., 1912.

und seinen Schülern haben wir tieferen Einblick in den Aufbau der Eisenverbindungen mit komplex gebundenen aliphatischen und aromatischen Säureresten und den Eisenverbindungen mit schwachen Säureresten (Phenolatosalzen) erhalten. Besonderes Interesse haben auch die Eisenverbindungen mit komplex gebundenen Basen, wozu die anfangs erwähnten $\alpha\alpha$-Dipyridyl- und α-Phenantrolin-Eisenverbindungen gehören, da sie sowohl durch ihre intensive Färbung, als auch durch den maskierten Zustand des Eisens an den Blutfarbstoff erinnern.

Zur Kenntnis der Gewöhnung. III.
Über experimentelle Gewöhnung an Schlafmittel.

Von
Johannes Biberfeld.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 29. Juli 1918.)

Wenn man die Literatur über Gewöhnung an zentral lähmende Substanzen — abgesehen von dem Gewöhnungsmittel κατ' ἐξοχην Morphin — durchsieht, so findet man, daß experimentell über die Gewöhnung höherer Tiere nur Weniges als wirklich gesichert angesehen wird. Es gilt das besonders für die nicht alkaloidischen Körper; so ist aus der Darstellung bei Hausmann[1]) zu erkennen, daß er die beim Menschen doch so sichere Gewöhnungsmöglichkeit an den Äthylalkohol bei Tieren nicht für erwiesen hält[2]). — Auch über die praktisch besonders als Ersatzmittel des Morphins gebrauchten Schlafmittel habe ich nur einige unzureichende experimentelle Untersuchungen finden können (s. w. u.). Und doch erscheint gerade eine solche Untersuchung lockend; denn man kann von ihrer Bearbeitung nicht nur einige theoretische Aufklärung über das Wesen der Gewöhnung erhoffen; auch für die Einschätzung der praktischen Wertigkeit ist es sicher nicht bedeutungslos, ob das Zentralnervensystem sich leicht an ein solches, meist länger

---

[1]) Ergebnisse der Physiologie 1907, 90.

[2]) Inzwischen hat J. Pringsheim (bei Rosenfeld) gezeigt, daß Ratten gegen Alkohol immunisierbar sind (diese Zeitschr. 12, 143; dort auch Literatur). — In einem Versuche mit Amylalkohol, über den Pohl berichtet (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 31, 283), war trotz sehr langer Zufuhr keine deutliche Gewöhnung eingetreten.

gebrauchtes Mittel gewöhnt. Allerdings ist ja zuzugeben, daß Mensch und Tier gerade in der Frage der Gewöhnung, auch wenn man nur die Toleranzerhöhung, nicht die Sucht nach dem Narkoticum ins Auge faßt, sich prinzipiell verschieden verhalten. Aber man wird stets finden, daß der menschliche Organismus leichter gewöhnbar ist; um nur bekannte Beispiele anzuführen: es gelingt nicht, irgendein Tier an Cocain[1]) oder an Nicotin[2]) zu gewöhnen. Findet man also, daß Tiere sich an ein narkotisches Mittel gewöhnen, so wird man mit Bestimmtheit voraussetzen können, daß dies beim Menschen in noch höherem Maße der Fall sein wird; ceteris paribus wird man daher Mittel bevorzugen, die im Tierexperiment ihre Wirkung auch bei längerer Darreichung behalten.

In den Bereich der vorliegenden Untersuchung sind nur die Substanzen gezogen worden, die in der praktischen Medizin als Schlafmittel verwertet werden; pharmakodynamisch unterscheiden sie sich von den Körpern, die zur Narkose im engeren Sinne gebraucht werden, ja nur dadurch, daß bei ihnen die Beeinflussung der Großhirnrinde die der Zentren in der Medulla oblongata und im Rückenmark überwiegt, und daß diese Wirkung weniger flüchtig ist. Beides läßt sie geeigneter erscheinen, Gewöhnung zu veranlassen.

In der Literatur habe ich nur eine unvollständige systematische Untersuchung über die fraglichen Substanzen gefunden. F. Japhé[3]) hat (bei Bürgi) Kaninchen auf ihre Gewöhnbarkeit an Urethan und Veronal untersucht. Wie sie sagt, hat sie befürchtet, daß die Versuchstiere eine häufige Beibringung sicher narkotisierender Dosen nicht überstehen würden, und

---

[1]) J. Grode, Über die Wirkung längerer Cocaindarreichung bei Tieren. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 67, 172.

[2]) Ch. Edmunds, Studien über Giftfestigkeit. Journ. of pharm. u. exp. ther. 1, 27. — Bei diesen beiden Alkaloiden handelt es sich allerdings nicht um Substanzen, die rein oder auch nur vorwiegend Tiere lähmen; vielleicht ist darin der Grund zu suchen, daß die Gewöhnbarkeit fehlt. An Krampfgifte ist anscheinend eine Gewöhnung überhaupt nicht möglich (Codein, Strychnin u. a); Langer (diese Zeitschr. 45, 221) hat gezeigt, daß Hunde nur an die narkotische Komponente der Heroinwirkung, nicht aber an die erregende gewöhnt werden können.

[3]) Therap. Monatshefte 1911, 110. — Die Veröffentlichung ist mir erst nach Abschluß meiner Versuche bekannt geworden.

deshalb eine solche Dosis nur einmal zu Anfang, dann längere Zeit kleinere, unwirksame Mengen und schließlich wieder die Anfangsdosis gegeben. Eine Gewöhnung mußte sich dann nach ihrer Meinung in einer Unwirksamkeit oder zum mindesten einer Abschwächung der Wirkung der Anfangsdosis zeigen. — Wenn es nun auch richtig ist, daß viele Kaninchen eine häufig wiederholte Beibringung von größeren Dosen der Narkotica nicht vertragen, so kann man doch die meisten bei geeigneter Pflege wochenlang (Japhé hat in einem Teil ihrer Versuche nur 8 Tage lang „gewöhnt") täglich in Schlaf versetzen, ohne daß sie zugrunde gehen. Ganz sicher gelingt dies, wie bekannt, bei Hunden, die ich deshalb in der Mehrzahl meiner Versuche benutzt habe. — Überdies glaube ich, daß die Art, wie Japhé ihre Versuche angestellt hat, für den Zweck nicht ausreicht. Sie würde nur dann genügen, wenn man als selbstverständlich voraussetzt, daß die Gewöhnung nicht nur mit einem Anwachsen der Zerstörungsfähigkeit des Organismus verbunden ist, sondern daß dieses Anwachsen allein das Wesen der Gewöhnung ausmacht; nur dann ist es erlaubt, anzunehmen, daß eine Gewöhnung sich auch mit nicht wirksamen Dosen erzielen lassen müsse. Wenn man aber die Erhöhung der Toleranz, wie dies viele Autoren[1]) und anscheinend auch Japhé selbst tun, auf einer durch die wiederholten Narkosen geänderten, verminderten Reaktionsfähigkeit der nervösen Zentren beruhen läßt, dann beweisen natürlich Versuche, bei denen die Tiere nicht narkotisiert wurden, nur dann etwas, wenn man in ihnen Gewöhnung erreicht hat. Und Japhé hat keine Gewöhnung erreicht[2]).

---

[1]) Siehe z. B. Langer (bei Heffter), l. c. 238.

[2]) Vor ca. 2 Jahren habe ich versucht, ob mit nicht wirksamen Dosen eines sicher gewöhnbaren Giftes, des Morphins, bei Kaninchen eine Gewöhnung erzeugt werden kann. Als zu prüfende Funktion habe ich hier, da die Allgemeinnarkose nicht in Betracht kam, die Verminderung der Atemfrequenz genommen; als Beispiel sei folgender Versuch angeführt: Kaninchen, 2600 g, das in 10 Sek. konstant 8 bis 9 Respirationen hat, erhält am 8. III. 1916 1 mg Morphin subcutan; nach 20 Min. ist die Zahl auf 6 gesunken. Ca. 0,4 mg pro kg ist demnach die eben noch schwach wirksame Dosis, zentrale Narkose natürlich nicht vorhanden. Am nächsten Tage erweist sich 0,5 mg als ganz unwirksam; am 10. und 11. III. wird 0,5 mg und vom 12. bis 22. III. täglich 2mal

Die Versuche Japhés beweisen demnach nicht, daß es keine Gewöhnung an Urethan oder Veronal gebe; noch weniger ist sie berechtigt, verallgemeinernd zu sagen, daß ihre Versuche „gegen eine Gewöhnung des tierischen Organismus an die Narkotica der Fettreihe sprechen".

Die in der Therapie gebrauchten Schlafmittel werden zwar sämtlich zu den Narkoticis der Fettreihe gerechnet, unterscheiden sich aber natürlich je nach ihrer chemischen Konstitution pharmakologisch (und klinisch) sehr erheblich voneinander. Systematisch lassen sie sich am besten in eine der folgenden Klassen einordnen: Klasse der einfachen Methanderivate, des Chloralhydrats, der Sulfone und der Harnstoffderivate; von jeder dieser Klassen habe ich einen oder mehrere Vertreter untersucht.

Als Repräsentanten der ersten Reihe, der einfachen Methanderivate, nahm ich das Amylenhydrat. — Daß Menschen sich an dieses Mittel leicht gewöhnen, ist bekannt[1]), experimentelle Untersuchungen habe ich nicht gefunden. — Bei Kaninchen kam ich in meinen Versuchen zu keinem sicheren Resultate; eine gewisse Abschwächung der Wirkung (vor allem Verminderung der Schlafdauer) war nach längerer Darreichung wohl vorhanden, doch war das Ergebnis nicht recht überzeugend. Ganz sicher läßt sich aber die Gewöhnbarkeit am Hunde nachweisen, wie der folgende Versuch zeigt:

Hund, 10000 g, erhält am 4. und 5. III. 4,0 und 4,5 g Amylenhydrat in 10%iger wäßriger Lösung per os, was nur Ataxie und leichten Schlaf zur Folge hat; am 6. III. ist er noch ataktisch und bekommt 9^h 20′ 4,5 g; 9^h 45′ bereits tiefer Schlaf, 11^h Atmung selten (12 in der Minute), Herzschlag kräftig. An jeden Atemzug schließt sich ein kurzer Tremor an. Die tiefe Narkose hält bis 5^h an, dann ist das Tier durch Kneifen zu erwecken, schläft aber bald wieder ein. Der Schlaf hält

---

je 0,5 mg (vor- und nachmittags) eingespritzt. Am 23. III. erhält das Tier (Gewicht 2560 g) bei 7 bis 9 Respirationen in 10 Sek. 2 mg, also die eben sicher auf die Atmung wirksame Dosis, subcutan; nach 20 Min. ist die Atemfrequenz auf 4 in 10 Sek. zurückgegangen. Es war also nichts von Gewöhnung vorhanden. — Wie man einen solchen Versuch bewerten soll, lasse ich dahingestellt, sicherlich spricht er aber nicht dafür, daß die Zerstörungsfähigkeit eine wesentliche Rolle bei der Gewöhnung spielt.

[1]) Siehe bei Lewin, Nebenwirkungen der Arzneimittel, S. 177.

noch am 7. III. bis gegen 5^h nachm. an[1]). In den darauf folgenden Tagen (bis 18. III.) erhält er täglich 4,0 oder 4,5 g per os; die Wirkung dieser Dosen läßt deutlich nach. Am 18. III. bewirkt die Eingabe von 4,5 g keinerlei Symptome von Narkose außer einer geringen Ungeschicklichkeit in den Bewegungen. — In den nächsten Tagen gab ich steigende Mengen, 5 und 6 g, die keinen Schlaf bewirkten. Am 21. III. wirkte auch 8,0 nicht hypnotisch, am 22. III. erzeugte dieselbe Dosis tiefe Narkose, die ca. 6 Stunden anhielt. Am 23. und 24. III. trat auf 7,0 g Schlaf ein, am 25. III. auf dieselbe Dosis nicht mehr und am 26. III. rief 7,5 g, am 27. und 28. III. je 8,0 g keinen Schlaf mehr hervor; das Tier war nur ataktisch. — Das Körpergewicht hatte sich während der ganzen Dauer des Versuches nicht geändert.

Es hatte also im Anfange des Versuchs die Dosis von 4,0 bzw. 4,5 g bei Wiederholung tiefe Narkose erzeugt, während am Ende die nacheinander verabreichten Mengen von 7,5 und zweimal 8,0 g so gut wie unwirksam waren; demnach war eine Gewöhnung an das Doppelte der anfangs stark wirksamen Dosis erzielt worden.

In meinen an Kaninchen angestellten Amylenhydratversuchen habe ich fortlaufend die Menge der ausgeschiedenen gepaarten Glucuronsäure polarimetrisch bestimmt; trotzdem es mir nun, wie angegeben, nicht gelungen ist, bei diesen Tieren eine so sichere Gewöhnung zu erzielen wie beim Hunde, glaube ich doch, daß folgende Beobachtungen nicht ohne Interesse sind.

Im allgemeinen ist man geneigt, in der Paarung mit Glucuronsäure einen Entgiftungsvorgang zu sehen[2]), wenn auch bekanntlich eine solche Paarung auch bei „ungiftigen“ Substanzen beobachtet wird. Ich habe deshalb an einigen Versuchstagen nachgesehen, ob die Ausscheidung des Paarlings zeitlich mit der hypnotischen Wirkung in Beziehung steht; wie die folgenden Versuche zeigen, ist dies nicht der Fall.

Kaninchen, 2200 g, erhält am 19. XII. 9^h 25′ 2,0 g per os, nach

---

[1]) Auffallend ist, daß das Tier, ebenso wie an den vorhergehenden Tagen, während des Schlafens die Zunge aus dem Maule heraushängen läßt und keucht, als ob es das Bedürfnis nach einer Vermehrung der Wärmeabgabe empfände; die Temperaturmessung im Rectum ergibt 37,4°.

[2]) J. Pohl, Quantitative Versuche über die Exhalation von Alkoholen, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Spl. 1908, 429, hat z. B. gezeigt, daß die Paarung zeitig genug erfolgt, um für eine Entgiftung in Frage zu kommen.

10 Minuten Schlaf; 3h setzt es sich auf, 3h 30′ frißt es, 4h Harn abgedrückt = 110 ccm mit einer Drehung von −1,21° = 1,549 g[1]) gepaarte Glucuronsäure. Bis 20. III. 9h entleert es 37,0 ccm mit 0,79 g Glucuronsäure. 9h 25′ erhält es wieder 2,0 g Amylenhydrat und schläft bis 3h 30′. 4h wird der Harn abgedrückt = 100 ccm mit 0,783 g Glucuronsäure. Bis 21. III. 9h 92 ccm mit 1,98 g gepaarter Säure. — Noch deutlicher beweisend ist vielleicht der folgende Versuch. Kaninchen, 1760 g, seit 4 Tagen mit Amylenhydrat gefüttert, erhält am 7. I. 9h 35′ 1,5 g per os, nach 15 Minuten leichter Schlaf, der später tief wird und bis gegen 1h anhält. Bis 8. I. werden 84 ccm mit 2,92 g gepaarter Glucuronsäure entleert; keine Fütterung mit Amylenhydrat. Bis 9. I. 9h 35 ccm Harn mit 1,18 g gepaarter Säure; der bis zum 10. I. ausgeschiedene Harn enthält keine aktive Substanz mehr.

In diesem Versuche ist es wohl sehr wahrscheinlich, daß die vom 8. bis 9. I. ausgeschiedene Menge der gepaarten Säure erst nach dem Abklingen der Wirkung gebildet worden ist.

Für die Mentholglucuronsäure habe ich[2]) gefunden, daß bei mehrfacher Wiederholung der Zufuhr die Bildung der Glucuronsäure sehr bald nachläßt; für die Amylenhydratglucuronsäure gilt das nicht. So habe ich in einem Versuche ein Kaninchen (2400 g) vom 10. XII. bis 6. I. täglich (mit Ausnahme eines Tages) zuerst mit 2,0 g, später, als das Körpergewicht abnahm, mit 1,5 g Amylenhydrat gefüttert. Am ersten Tage der Fütterung schied es 4,08 g, am zweiten 4,5 g und am 7. I. noch, obschon auf 1700 g abgemagert und sichtlich krank[3]), 3,07 g der gepaarten Säure aus. Da aus 1 g Amylenhydrat 3,03 g des Paarlings gebildet werden können, berechnet sich die tatsächlich ausgeschiedene Menge am ersten und zweiten Tage der Fütterung auf ca. 65 bzw. 75%, am 28. Tage der Fütterung auf ca. 65% des theoretisch Möglichen. Also nicht die geringste Abnahme.

---

[1]) Als spezifische Drehung der Amylenhydratglucuronsäure habe ich −39,13° angenommen; aus den Thierfelderschen Angaben (Zeitschr. f. phys. Chem. 9, 511) berechnet sich eine spezifische Drehung von 37,06° (T. hat das Kalisalz polarisiert!). Da sein Apparat für Traubenzucker eine spezifische Drehung von nur 50° hatte (S. 512), der von mir benutzte Schmidt-Haentschsche Apparat aber für diesen 52,8° anzeigt, so ergibt sich für die Glucuronsäure der Wert von −39,13°.

[2]) Diese Zeitschr. 65, 482.

[3]) Am 8. I. ging das Tier ein; bei der Sektion fand sich eine eitrige Pneumonie.

Als Vertreter der zweiten Klasse, der der gechlorten Derivate, habe ich das Chloralhydrat genommen. — Über die (beim Menschen so leicht auftretende) Gewöhnung an dieses Mittel habe ich nur eine experimentelle Untersuchung am Tiere gefunden. B. Wallace[1]) gibt an, daß er bei Hunden keine Erhöhung der Toleranz, sondern nur ein rascheres Verschwinden der Narkose durch längere Vorbehandlung erzielt habe. — In meinen Versuchen war die Gewöhnung deutlich ausgeprägt Bei einem Hunde von 8000 g fand ich 3,0 (20%ige Lösung per os) als Dosis, die bereits mehrstündigen Schlaf (keine reflexlose Narkose) hervorrief; nachdem er diese Dosis 6 mal bekommen hatte, bewirkte sie nur noch Müdigkeit. Am nächsten Tage gab ich 4,0 g und erzeugte damit Schlaf; bei der 4. Wiederholung dieser Menge dauerte der Schlaf nur ca. 2 Std. Später stieg ich auf 6 und 8 g täglich; diese hohen Gaben bewirkten fast immer Schlaf, der aber stark verkürzt war, z. B. 5 Wochen nach Beginn des Versuchs auf 6,0 g nur ca. 2 Stunden anhielt. 4,0 g waren in diesem Stadium nicht mehr ausreichend, um Schlaf hervorzurufen.

Meist habe ich die Ausscheidung der Urochloralsäure polarimetrisch verfolgt; sie schwankte sowohl bei den verschiedenen Tieren als auch bei demselben Individuum in weiten Grenzen; so erhielt ich einmal nach einer Dosis von 6,0 g Chloral nur 5,2 g der gepaarten Säure (noch nicht 50% des theoretisch Möglichen), bei einem anderen Hunde aber nach 3,0 g Chloral 5,09 g Urochloralsäure (etwa 80%). — Ein Nachlassen der Ausscheidung bei häufig wiederholter Einführung war auch hier nicht zu sehen.

Aus der Reihe der Sulfone habe ich das Sulfonal untersucht. Soweit ich die Literatur einsehen konnte, habe ich keine experimentelle Untersuchung an Tieren trotz der vielen Publikationen über die Erscheinungen und Gefahren des Sulfonalismus des Menschen finden können.

---

[1]) Journ. of pharm. and exp. ther. 4, 462. Die Arbeit hat mir gegenwärtig nicht im Original zur Verfügung gestanden; die oben gemachten Angaben beruhen auf einem Referate P. Trendelenburgs in Ther. Monatsh. **1912**, 668.

Ich habe bei mehreren Hunden versucht, Gewöhnung an oral beigebrachtes Sulfonal zu erzeugen; sehr bald zeigte sich aber auch bei den Tieren die von der medizinischen Verwendung her bekannte lange Dauer der Wirkung bzw. der Nachwirkung[1]), die unter Umständen eine sonst kaum wirksame Dosis tödlich werden läßt. So in folgendem Versuche:

Hund, 8800 g, erhält am 15. V. 3,0 g Sulfonal per os. Nach kurzer Zeit taumelt er; die Bewegungen sind inkoordiniert, kein Schlaf. — 16. V. Die Inkoordination ist noch recht stark; erhält 9^h wieder 3,0 g. Nach einigen Minuten steigt die Ataxie sehr erheblich an. 10^h heftiges Zittern, leichter Schlaf, 10^h 30′ Schlaf tiefer, auch das Zittern hat sehr zugenommen, krampfartig. — Dieser Zustand von tiefer Narkose mit dauernden Laufkrämpfen hält den Tag über an. Auch am 17. V. ist der Zustand noch ebenso. — Am 18. V. früh taumelt der Hund noch; Gewicht 8000 g. — Am 19. V. (Gewicht 8900 g) 9^h 20′ 3,0 g per os. 12^h tiefe Narkose mit Laufbewegungen; 12^h 30′ etwas munterer. — Am 20. V. keine Fütterung. 21. V. Gewicht 8900 g; 9^h 3,0 g per os, 9^h 40′ Müdigkeit, gegen 11^h ganz leichter Schlaf, 12^h ebenso. — 22. V. Gewicht 10 300 g; 8^h 50′ 4,0 g per os; 9^h 20′ taumelt; 10^h leichter Schlaf, Tremor; 11^h 30′ Schlaf tiefer, Tier aber immer noch erweckbar. Am Nachmittage tiefe Narkose mit Laufkrämpfen. Ebenso am 23. V. während des ganzen Tages. Am 24. V. mittags Exitus.

In einem anderen Versuche gelang es mir, einem größeren Hunde (Gewicht ca. 12 kg) im Zeitraume vom 30. V. bis 2. VII. 23 mal Sulfonal beizubringen; die Größe der zur Schlaferzeugung nötigen Mengen schwankte sehr erheblich; ca. 1 Woche nach Beginn des Versuches schlief er schon nach 1,0 g, 10 Tage später waren 4,0 g kaum wirksam, und am 1. und 2. VII. riefen 3,0 bzw. 4,0 g wieder Schlaf hervor. — Ich glaube nicht, daß man daraus auch nur auf eine partielle Gewöhnung schließen darf; es handelte sich bei den Schwankungen der Wirksamkeit sicherlich nur darum, ob eine Nachwirkung infolge von Schwankungen der Ausscheidungsdauer vorhanden war oder nicht. — Mit einer Substanz, die so stark wirksam ist und dabei so langsam ausgeschieden wird, läßt sich experimentell Gewöhnung nicht erzielen.

[1]) Wie Morro (Deutsche med. Wochenschr. **34**, 1894) nachgewiesen hat, dauert es 3 bis 4 Tage, bis der Mensch Sulfonal vollständig ausgeschieden hat.

Aus der letzten Reihe der Schlafmittel, der der Harnstoffderivate, habe ich drei Substanzen untersucht, die nach ihrer chemischen Konstitution und pharmakologischen Wirkung drei Klassen repräsentieren.

Urethan. Japhé, die, wie erwähnt, Versuche mit Urethan angestellt hat, erzielte bei ihren Kaninchen mit subcutaner oder oraler Beibringung keine sicheren Resultate; 3 Tiere, denen sie die Substanz intravenös injizierte (erst die narkotische, dann mehrmals eine erheblich kleinere Dosis), zeigten keine Gewöhnung. — Auch ich habe zu den Urethanversuchen nur Kaninchen verwendet, da ja Hunde mit Urethan allein kaum narkotisierbar sind und Katzen, bei denen das eher möglich ist, mir nicht zur Verfügung standen. — Die von Japhé geschilderten Schwierigkeiten bei der subcutanen Darreichung[1]) waren auch mir hinderlich, doch habe ich einige Versuche zweckentsprechend durchführen können, so den folgenden:

Kaninchen, 2600 g, erhält vom 1. III. bis 4. III. je 2,0 Urethan (10%ige Lösung) in eine Ohrvene; die sofort eintretende Narkose hält nie länger als 30 bis 40 Minuten an; am 5. III. (Gewicht 2300 g) werden 3,0 subcutan injiziert. Die Narkose hält den Tag über an und auch am 6. früh ist das Tier noch im Halbschlaf; keine Injektion. Vom 7. III. an erhält es bis zum 15. III. täglich (mit Ausnahme des 11. III.) 2,0 subcutan. Diese Dosis bewirkte stets Schlaf von 2 bis 2½ stündiger Dauer. Am 16. III. (Gew. 2100) erhält es 9^h 2,0 subcutan; 9^h 10′ Schlaf, der den ganzen Tag über anhält; auch am 17. früh noch Halbschlaf. — Am 19. geht das Tier ein.

Das Kaninchen hatte also innerhalb von 16 Tagen 3 mal 2,0 intravenös, 1 mal 3,0 und 8 mal 2,0 Urethan subcutan (bei nur geringem Sinken des Körpergewichts) bekommen; die letzteingespritzte Dosis wirkte stärker als die erste. Eine Gewöhnung war also nicht vorhanden.

Bromural. Als Beispiel einer zweiten Abteilung der Harnstoffderivate habe ich den α-Bromisovalerianylharnstoff [$(CH_3)_2$ CH·CHBr·CO·NHCO NH_2] genommen. Wenn auch selbstverständlich in diesem Molekül der Isovalerianylrest und das Bromatom für die Wirkung wesentlich sind, so kann man

[1]) Von der intravenösen Injektion habe ich wegen der kurzen Dauer der dann eintretenden Narkose — die auch Japhé aufgefallen ist — abgesehen.

doch wohl die Harnstoffkomponente als den für das Eigenartige der Wirkung bestimmenden Teil ansehen[1]). — Der Versuch verlief folgendermaßen:

Kaninchen, 1800 g, erhält am 5. VI. 1,0 per os; nach 15 Min. Schlaf, der ca. 4 Stunden anhält. 6. VI. die gleiche Dosis; Schlaf von mehr als 6 Stunden Dauer. 7. VI. Gew. 1700; 0,75 per os, Schlaf von ca. 5 Stunden. 8. VI. 0,5 per os; Schlafdauer etwas mehr als 1 Stunde. Am 9. keine Fütterung. Vom 10. bis 21. erhält das Tier täglich 0,5 und schläft stets ca. 2 Stunden lang; das Körpergewicht sinkt langsam, am 20. VI. beträgt es noch 1600 g. Am 21. aber wiegt das Tier nur noch 1420 g und geht am 23. VI., trotzdem am 22. kein Bromural mehr gegeben wurde, ein. Die Sektion ergibt makroskopisch normale Organe.

Dieser Versuch zeigt, daß auch bei häufiger Fütterung mit Bromural die Wirkung sich nicht abstumpft. — Keineswegs kann man aber aus ihm entnehmen, daß die Wirkung der gleichen Dosis Bromurals durch die Wiederholung der Einfuhr stärker wird. Ich betone das deshalb, weil Takeda[2]) angibt, er habe bei fortgesetzter Fütterung zweier Kaninchen mit der nicht schlafmachenden Dosis von 0,3 g pro kg schon nach der 5. Fütterung Schlaf erzielt. Die fortlaufende Fütterung mit 0,1 g pro kg habe das nicht zuwege gebracht, aber die so vorbehandelten Tiere wären durch die sonst unwirksame Dosis von 0,2 pro kg in Schlaf versetzt worden. Takeda bezieht diese Akkumulation auf eine Anhäufung von anorganischem Bromsalz im Gehirn, da er fand, daß auch Vorfütterung mit 1,0 KBr die Tiere für 0,2 g Bromural empfänglich macht. — Wie man aus meinem Versuche ersieht, erzeugt schon eine Dosis von weniger als 0,3 g pro kg stets ca. 2 stündigen Schlaf; aber auch 0,2 g pro kg ist hypnotisch keineswegs unwirksam, z. B. in folgendem Versuche[3]):

---

[1]) S. Takeda, Untersuchungen über das Bromural, Arch. intern. de pharmacodyn. et de thér. 21, 203, hat nachgewiesen, daß, obgleich es zur Abspaltung von Br im Organismus kommt, die Wirkung des Bromurals von dem unzersetzten Molekül abhängt.

[2]) S. Takeda, Weitere Studien über Bromural. Arch. intern. de pharmac. et de thérapie 23, 317.

[3]) Auch A. v. d. Eeckhout (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 57) führt einen Versuch an (S. 342), in dem 0,2 g pro kg eine Narkose von mehr als 1 Stunde Dauer bewirkt hat. — E. gibt auch an, daß Bromural keine kumulative Wirkung zu haben scheine.

Kaninchen, 1840 g, erhält 9h 07′ 0,36 Bromural per os; 9h 14′ Atmung 44 in der Minute, wackelt; 9h 16′ fällt um, richtet sich aber wieder auf; 9h 20′ schläft, reagiert aber auf Reize. 10h 10′ knabbert das Tier, auf der Seite liegend, an einem vorgehaltenen Kohlblatt, schläft aber dann wieder ein; 10h 35′ richtet es sich auf.

Für unsere europäischen Kaninchen stimmen also die von Takeda angegebenen Dosen[1]) jedenfalls nicht, und es wäre erst an diesen nachzusehen, ob die von ihm behauptete Addierung vorher gefütterten ionalen Broms und Bromurals wirklich auftritt; Takeda hat nach den Protokollen, die er veröffentlicht, nur wenige Versuche angestellt, und die absoluten, von ihm im Gehirn gefundenen Bromuralmengen waren sehr gering.

Weiterhin habe ich das Veronal (Diäthylmalonylharnstoff) untersucht; zwei Kaninchen gingen unter starker Abmagerung nach 2- bis 3 maliger Injektion von 0,25 Veronal (als Na-Salz subcutan) ein. Dagegen führte ein Versuch am Hunde zum Ziele:

Hund von ca. 9 kg Gewicht erhält, nachdem sich 0,5 bis 1,0 g Veronalnatrium subcutan als zu wenig wirksam erwiesen hatten, vom 20. XI. bis 29. XI. täglich 1,5 subcutan, eine Dosis, die meist, aber nicht immer, tiefe Narkose erzeugte. Vom 30. XI. bis 13. XII. werden 2,0 g erst subcutan, vom 5. XII. ab per os beigebracht, die stets mehrstündigen Schlaf oder sogar Narkose erzeugten. Die am 13. XII. eingegebene Dosis von 2,0 g bewirkte tiefen Schlaf, der den ganzen Tag über anhielt.

Gewöhnung war demnach nicht eingetreten.

Einen Versuch habe ich auch mit Nirvanol (Phenäthylhydantoin)

O
C — NH
C_2H_5 CO
C
C_6H_5 NH

an einem Hunde angestellt.

Hund, 11000 g, erhält am 11. IV., da 1,0 g am 9. und 10. IV. nur wenig wirksam waren, 1,5 per os; darauf tiefe Narkose, die den Tag

[1]) Kwan, der wie T. in Kyoto arbeitete, findet ebenfalls erst sehr hohe Dosen wirksam (Arch. intern. de pharmac. et de thér. 22, 333).

über anhält. Am 12. IV. noch benommen, keine Fütterung. Am 13. IV. 1,5 g; tiefe Narkose; am 14. IV. benommen, keine Fütterung. Am 15. IV. 1,5 g, tiefe Narkose. 16. IV. noch etwas ataktisch, 1,5 g, tiefe Narkose. Am 17. IV. vorm. noch benommen, keine Fütterung. Am 18. IV. 1,5 g tiefe Narkose; die Lähmung hält noch am 19. IV. an; gegen 4^h Tod.

Wenn auch der Versuch nicht lange genug durchgeführt worden ist, um vollständig beweisend zu sein, so ist doch zu erkennen, daß die Wirkung nicht ab-, sondern zugenommen hat.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß mit den als Schlafmitteln gebrauchten Narkoticis der Fettreihe (Amylenhydrat, Chloralhydrat) bei Tieren Gewöhnung zu erzielen ist[1]), während sämtliche, chemisch untereinander sehr verschiedene Derivate des Harnstoffs, ganz gleich, ob sie das $\overset{+}{U}$-Molekül offen oder ringförmig geschlossen enthalten, auch nach längerer Darreichung ihre Wirkung ungeschwächt entfalten[2]). — Wenn man sich den natürlichen Schlaf normalerweise durch irgendwelche im Stoffwechsel entstehende Produkte hervorgerufen denkt, die die Erregbarkeit der nervösen Zentren der Hirnrinde herabsetzen, dann muß man selbstverständlich auch voraussetzen, daß diese Produkte ihre Wirksamkeit nie einbüßen, daß es eine Gewöhnung an sie nicht gibt. Nun kennt man allerdings eine direkte narkotische Wirksamkeit nur von einem einzigen Stoffwechselprodukte, der CO_2, während die anderen, und auch der Harnstoff, in dieser Richtung unwirksam sind, wenn man sie von außen einführt. Doch das beweist nicht, daß der Harnstoff nicht doch im Stoffwechsel, bei seinem Entstehen aus den Aminosäuregruppen des Eiweißmoleküls, zu einem Ermüdungsgefühl Anlaß geben kann[3]). — Jedenfalls scheint die Analogie, die in der Ungewöhnbarkeit sämtlicher

[1]) Daß die Tiere auch an die sich unmittelbar an den Alkohol anschließenden Mittel, wie das Paraldehyd, gewöhnt werden können, darf man wohl schon aus der Analogie schließen, die sie mit dem Alkohol in ihrer Wirkung und in ihrem Schicksal im Organismus haben.

[2]) Bekanntlich wird von Klinikern über Gewöhnung von Menschen z. B. auch an Veronal (Veronalismus) berichtet. Doch wäre vielleicht erst durch exakt beobachtende Versuche (Ausschluß suggestiver Momente u. a.) festzustellen, ob hier wirklich ein prinzipieller Unterschied zwischen Mensch und Tier vorliegt.

[3]) Bekannt ist das Ermüdungsgefühl nach reichlichem Fleischgenuß.

$\overset{+}{U}$-Derivate und der natürlichen Ermüdungsstoffe liegt, beachtenswert.

Zusammenfassung.

1. An die Schlafmittel der Fettreihe (Amylenhydrat, Chloralhydrat) sind Tiere gewöhnbar, an die narkotisch wirkenden $\overset{+}{U}$-Derivate (Urethan, Bromural, Veronal) nicht. — Mit Sulfonal läßt sich, der langen Nachwirkung wegen, keine Gewöhnung erzielen.

2. Die Bildung und Ausscheidung der Amylenhydratglucuronsäure ist zeitlich nicht mit der hypnotischen Wirkung verknüpft. — Die Menge der ausgeschiedenen Amylenhydratglucuronsäure und Urochloralsäure ändert sich bei andauernder Fütterung nicht.

Über den „Nährwert“.

Von

Hans Aron.

(Aus der Universitätskinderklinik Breslau.)

(Eingegangen am 17. August 1918.)

Mit 12 Figuren im Text.

Die Frage, welchen Nährwert die einzelnen Nahrungsmittel besitzen, ist für die Ernährungslehre theoretisch wie praktisch gleich bedeutungsvoll. Von vielen Seiten wird als grundlegender Maßstab für die Wertschätzung eines Nahrungsmittels ausschließlich der Brennwert betrachtet. So lesen wir in Königs grundlegendem Werke[1]: „Unter Nährwert versteht man die Gesamtmenge der in einem Nahrungsmittel enthaltenen Nährwerteinheiten ... Für die Berechnung des Nährwertes kommen nur die drei Nährstoffgruppen Stickstoffsubstanz, Fett und Kohlenhydrate in Betracht.“ Wie schon Höber[2]) hervorgehoben hat, kann man diese Identifizierung von Nährwert mit Calorienwert, die in ähnlicher Fassung häufig in der Literatur wiederkehrt, nicht ohne weiteres gelten lassen. Viele Forscher fassen auch den Begriff des Nährwertes weiter, indem sie wenigstens der Frage der Eiweißzufuhr gebührende Bedeutung beimessen. Zum Zwecke der genaueren Berechnung des Nährwertes hat man dann für die einzelnen Nahrungsmittel noch die „nutzbaren Nährwerte“ zu ermitteln versucht, d. h. denjenigen Anteil des aufgenommenen Eiweißes und der Gesamtcalorien, die der Körper wirklich zu verwerten vermag. Aber auch wenn an die Stelle der Bruttowerte die „physiologischen Nutzwerte“

---

[1]) I. König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel.

[2]) R. Höber, diese Zeitschr. 82, 68 bis 71.

gesetzt werden, stets kommt die Beurteilung des „Nährwertes“ der verschiedenen Nahrungsmittel doch darauf hinaus, daß man feststellt, wie weit diese Nahrungsmittel zur Deckung des Eiweißbedarfes beitragen können oder welche Wärmewerte sie dem Körper zu liefern vermögen. Aus diesen beiden Werten, Gehalt an nutzbaren Calorien und nutzbarem Eiweiß, glaubt man gemeinhin den „Nährwert“ mit hinreichender Genauigkeit bestimmen zu können[1]). Mit Hilfe der bekannten Nährwerttabellen pflegt man auf Grund des Calorienwertes und des Eiweißwertes den „Nährwert“ der verschiedenen Nahrungsmittel festzustellen, so daß sich die Ernährungslehre zu einer beinahe mathematisch rechnenden Wissenschaft entwickelt hat, die nicht nur theoretische Probleme, sondern auch die großen Fragen der Volksernährung zahlenmäßig zu lösen versucht.

Diese Form der Nährwertberechnung ist zwar überaus einfach und für manche praktische Zwecke äußerst brauchbar, Eiweißgehalt und Calorienzahl allein geben uns aber doch in vielen Fällen kein ausreichendes Bild von dem „Nährwert“ der Nahrung oder der Nahrungsmittel.

Von allen Nahrungsbestandteilen wird dem Eiweiß bei der Nährwertberechnung eine besondere Stellung eingeräumt, Es wird berücksichtigt, daß das Eiweiß nicht nur Energiespender ist, sondern daß dem Eiweiß als wichtigstem Zellbaustoff beim Ernährungsvorgang eine besondere Funktion zukommt, die an charakteristische Eigenschaften des Eiweißmoleküls gebunden ist, und in der es durch andere Nährstoffe nicht vertreten werden kann. Infolge dieser dem Eiweiß zuerkannten besonderen Funktion wird die Zufuhr einer Mindestmenge von Eiweiß in der Nahrung als unerläßlich betrachtet. Fett und Kohlenhydrate der Nahrung werden dagegen bei der Beurteilung des Nährwertes ausschließlich als Wärmespender angesehen. Da sich nun nach dem Gesetze von der Isodynamie der Nährstoffe die einzelnen Nährstoffgruppen im Verhältnis ihrer Verbrennungswärme vertreten können, so erscheint es als selbstverständlicher Schluß, wenn man annimmt, daß sowohl das Fett wie das Kohlenhydrat der Nahrung durch äquicalorische Mengen anderer Nährstoffe vollkommen ersetzbar sind.

---

[1]) N. Zuntz, Ernährung und Nahrungsmittel, Leipzig, Berlin 1918.

Bei der Berechnung des Nährwertes wird deshalb nur festgestellt, wie hoch der Eiweißwert und der Gesamtbrennwert der Nahrung ist; es gilt aber bei genügender Eiweißzufuhr als völlig belanglos, von welchen Nährstoffgruppen die Brennwerte geliefert werden. So hat sich schließlich die Auffassung gebildet, daß das Fett als solches in der Nahrung vollkommen entbehrlich ist, sofern an seiner Stelle andere Nährstoffe in genügender Menge zugeführt werden[1]).

Soweit die Wärmebildung und die Kraftleistungen des Körpers in Frage kommen, ist es ja ohne Zweifel erwiesen, daß alle drei Nährstoffgruppen in gleicher Weise verwendbar sind, daß also Kohlenhydrate vollkommen die Stelle des Fettes zu ersetzen vermögen. Das erlaubt nun aber keineswegs die allgemeine Schlußfolgerung, daß das Fett in allen seinen Funktionen durch das Kohlenhydrat in der Nahrung vertreten werden kann. Es ist sehr wohl der Fall denkbar, daß das Fett zwar für beschränkte Zeit und für bestimmte Zwecke (Wärmebildung, äußere Arbeitsleistung) durch Kohlenhydrat ersetzt werden kann, trotzdem aber doch nicht als völlig entbehrlich angesehen werden darf. Gerade unter den jetzigen Ernährungsbedingungen ist es von hohem Interesse und großer praktischer Bedeutung, festzustellen, ob wirklich das Fett ohne Schaden gänzlich aus der Nahrung fortgelassen werden kann, wenn entsprechend mehr Kohlenhydrate aufgenommen werden.

Auf Grund tierexperimenteller Untersuchungen bin ich zu der Ansicht gelangt, daß unsere Anschauungen von der Ersetzbarkeit des Fettes durch Kohlenhydrate in der allgemeinen Form, in der sie auch von den angesehensten Forschern auf dem Gebiet der Ernährungslehre ganz allgemein vertreten werden, nicht aufrecht zu erhalten sind.

Ich stütze mich hierbei auf Versuche, die schon in den Jahren 1912 bis 14 angestellt wurden, auf deren Ergebnis ich auch früher gelegentlich hingewiesen habe[2]), die aber aus äußeren Gründen bisher noch nicht ausführlicher veröffentlicht worden sind. Bei meinen Untersuchungen über die Beeinflussung des Wachstums durch die Ernährung war mehrfach aufgefallen,

---

[1]) N. Zuntz, Ernährung und Nahrungsmittel, Leipzig, Berlin 1918.

[2]) Aron, Berl. klin. Wochenschr. **1914**, 972 bis 977.

daß junge wachsende Ratten, die mit einem Nährstoffgemisch aus Casein, Kleie und Stärke gefüttert wurden, nachdem sie längere Zeit gut gediehen waren, nicht mehr recht an Gewicht zunahmen, elend wurden und wenn sie nicht auf ein anderes Nährstoffgemisch übergeführt wurden, zugrunde gingen, daß dagegen andere Tiere, die mit ähnlichen, aber unter Zusatz von Butter bereiteten Nahrungsmischungen ernährt wurden, erheblich besser gediehen. Um zu prüfen, ob dem Buttergehalt der Nahrung, wie es den Anschein hatte, eine besondere Bedeutung zukam, wurden zwei Futtermischungen bereitet, die erste bestehend aus:

120 g Plasmon,
100 g Weizenkleie,
800 g Weizenstärke,

die zweite bestehend aus:

25 g Butter,
120 g Plasmon,
100 g Weizenkleie,
800 g Weizenstärke.

Zuerst wurden 3 Tiere eines Wurfes (Nr. 84, 85, 86) etwa vom 25. Lebenstage ab mit dem butterfreien Nahrungsgemisch ernährt, während zwei andere Kontrolltiere (148, 161) das zweite butterhaltige Nahrungsgemisch erhielten. Aus den folgenden Kurven Nr. 1 bis 5, in welchen die hohlen Kreise und gestrichelten Linien Ernährung mit dem butterfreien Nahrungsgemisch, die vollen Punkte und starken Linien Ernährung mit dem butterhaltigen

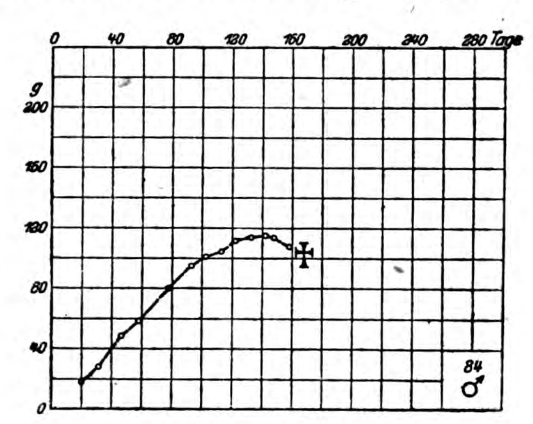


Fig. 1 Kurve 1.

Nahrungsgemisch bezeichnen, ist ersichtlich, daß die drei butterfrei ernährten Tiere (Kurve Nr. 1 bis 3) nach anfänglich gutem Gedeihen

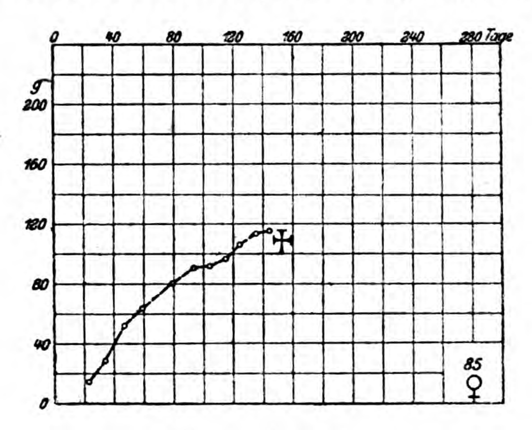


Fig. 2. Kurve 2.

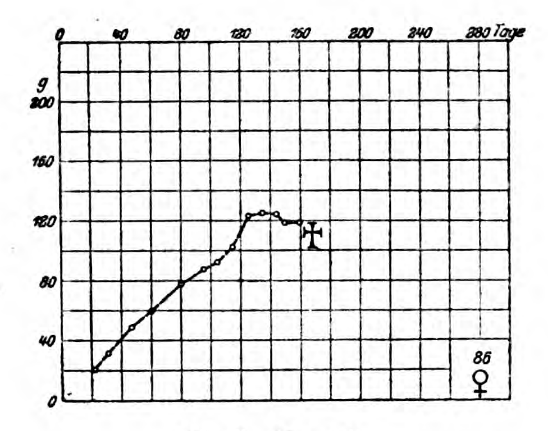


Fig. 3. Kurve 3.

etwa vom 120. Lebenstage ab schlecht an Gewicht zunahmen und zwischen dem 150. und 160. Lebenstage eingegangen waren. Die beiden anderen Gewichtskurven (Nr. 4 und 5) lassen dagegen ein unverändert gutes Gedeihen der beiden mit dem butterhaltigen Nahrungsgemisch gefütterten Tiere erkennen. Diese beiden Tiere wurden bis zum 210. bzw. 250. Lebenstage beobachtet und blieben bei bestem Wohlbefinden gesund und kräftig. Obwohl schon das Ergebnis dieses Versuches völlig eindeutig war, folgten

noch weitere Versuche der gleichen Art. In 4 Versuchsreihen wurden je 2 Tiere gleichen Geschlechtes aus gleichem Wurfe

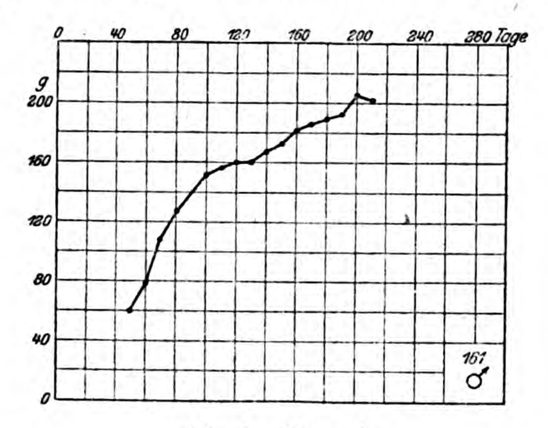


Fig. 4. Kurve 4.

erst eine Zeitlang mit dem butterhaltigen Nahrungsgemisch gefüttert, dann wurde jedesmal eines der beiden Tiere auf das butterfreie Nährstoffgemisch übergeführt, das andere bei dem butterhaltigen belassen.

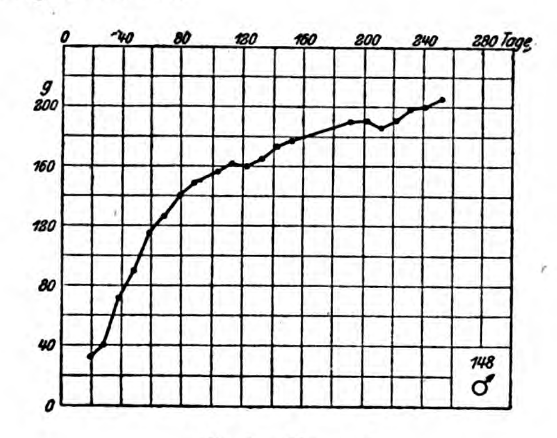


Fig. 5. Kurve 5.

In der ersten Versuchsreihe (Kurve 6) wurden zwei männliche Tiere (Nr. 104 und 107) vom 25. bis 162. Lebenstage mit dem butterhaltigen Nährstoffgemisch gefüttert und nachdem sie annährend ausgewachsen waren, wurde dem Tiere Nr. 107, das 220 g wog, die butterfreie Nahrung gegeben, während Tier Nr. 104 bei der butterhaltigen blieb. Am 250. Lebenstage,

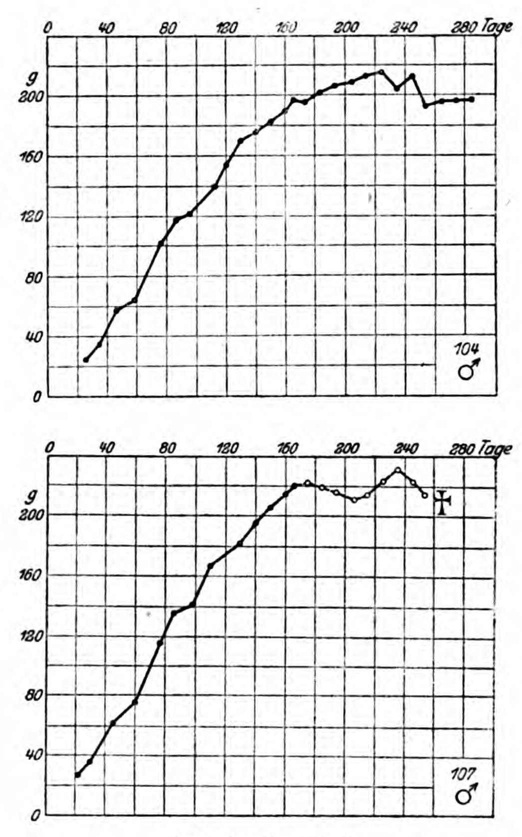


Fig. 6. Kurve 6.

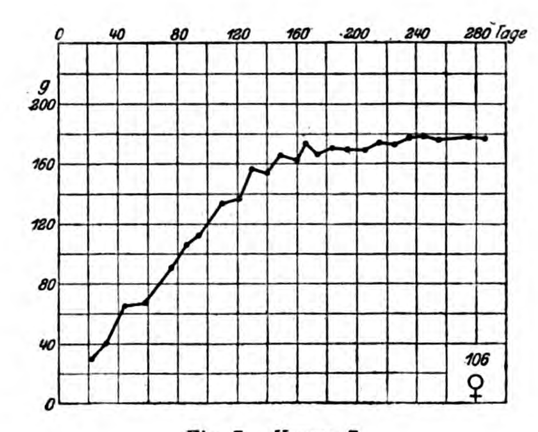


Fig. 7. Kurve 7.

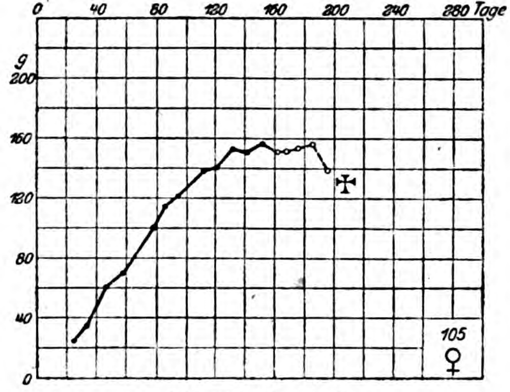


Fig. 7. Kurve 7.

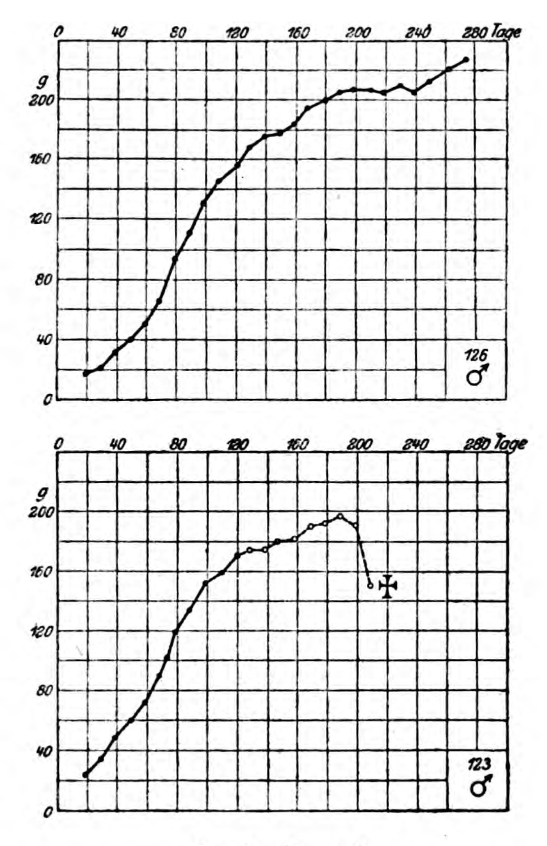


Fig. 8. Kurve 8.

also nach 85 Tagen butterfreier Ernährung war Tier Nr. 107 eingegangen, während Nr. 104 bis zum 285. Lebenstage beobachtet wurde und weiterhin in bester Verfassung blieb.

Die folgende Versuchsreihe (Kurve 7) bei 2 weiblichen Tieren des gleichen Wurfes (Nr. 105 und 106), verlief ganz ebenso, nur daß hier das auf butterfreie Nahrung übergeführte Tier Nr. 105 schon nach 35 Tagen butterfreier Ernährung erlag, während das Schwestertier Nr. 106, noch 90 Tage weiter beobachtet, vollkommen gesund blieb.

Die dritte Versuchsreihe (Kurve 8) betrifft zwei männliche Tiere aus einem anderen Wurfe, Nr. 123 und 126, von denen das kräftigere, Nr. 123, am 120. Lebenstage im Gewicht von 170 g auf butterfreie Nahrung übergeführt wurde, während das Brudertier Nr. 126, das im gleichen Alter 158 g wog, weiterhin bei dem butterhaltigen Nährstoffgemisch blieb. Diesmal gedieh das butterfrei ernährte Tier Nr. 123 noch 80 Tage leidlich, wenn auch nicht ganz so gut wie das Vergleichstier Nr. 126, dann erfolgte ein ziemlich jäher Gewichtssturz, und nach 84 Tagen butterfreier Ernährung war das Tier Nr. 123 eingegangen, während das Brudertier Nr. 126, bis zum

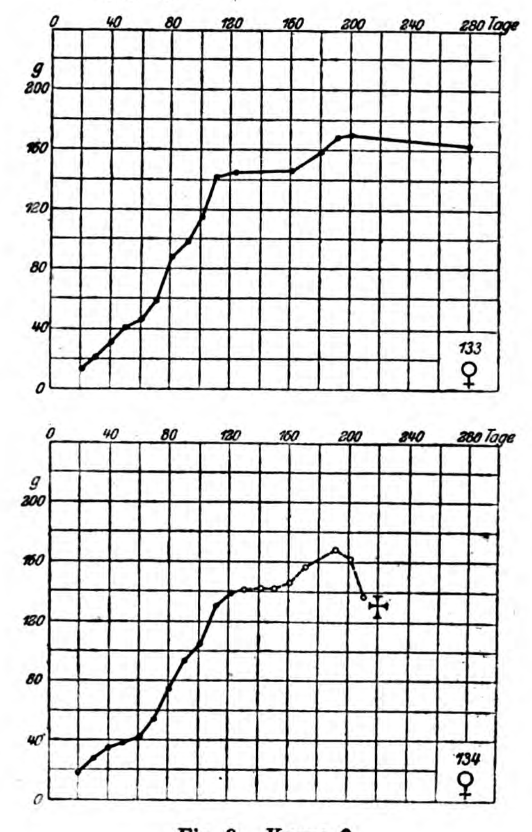


Fig. 9. Kurve 9.

275. Lebenstage beobachtet, bei dem butterhaltigen Nährstoffgemisch normal gedieh.

Vollkommen analog verlief schließlich auch die vierte Versuchsreihe (Kurve 9) wiederum bei 2 weiblichen Tieren aus einem Wurfe, Nr. 133 und 134. Nach etwa 80 Tagen butterfreier Ernährung vom 122. Lebenstage ab war Nr. 134 am 205. Lebenstage eingegangen, während das Schwestertier Nr. 133 mit dem butterhaltigen Nährstoffgemisch bis zum 280. Lebenstage gesund blieb.

Überblicken wir diese Versuche in ihrer Gesamtheit, so zeigen sie alle übereinstimmend, daß der Zusatz der Butter zu der Nahrung von einschneidenster Bedeutung ist. Sämtliche 7 Tiere, die mit dem butterfreien Nährstoffgemisch gefüttert wurden, gingen nach kürzerer oder längerer Zeit zugrunde, während die 6 Vergleichstiere, die ein ganz analog zusammengesetztes, nur etwa 2,5 % Butter enthaltendes Nahrungsgemisch bekamen, sich weiterhin dauernd gut entwickelten. Das Alter der Tiere spielte keine wesentliche Rolle. Sowohl die jungen Tiere, die bald nach dem Abschluß der Säugeperiode butterfrei ernährt wurden, als auch die ausgewachsenen Tiere, die erst im Alter von 3 bis 4 Monaten auf das butterfreie Nährstoffgemisch übergeführt wurden, gediehen eine Zeitlang recht gut. Die schädlichen Wirkungen der butterfreien Kost traten bei allen Tieren erst nach längerer Zeit auf, und gerade bei den jüngeren Tieren sehen wir Zeiträume von beinahe 3 Monaten verstreichen, bis es erkennbar wird, daß die butterfreie Ernährung für die Tiere unzureichend ist. Hätte man diese Versuche nach kürzerer Zeit, vielleicht nach 50, ja in manchen Reihen erst nach 100 Tagen abgebrochen, so hätte man die schädliche Wirkung des Buttermangels nicht erkannt.

Man könnte noch den Einwand erheben, daß in diesen Versuchen bei der Herstellung der beiden Nährstoffgemische, der butterhaltigen und der butterfreien Nahrung, die Butter nicht äquicalorisch durch andere Nährstoffe ersetzt worden ist. Da aber die Tiere nicht zugemessene Futtermengen erhielten, sondern stets soviel Nahrung bekamen, wie sie aufnehmen wollten und ihnen dauernd ein Überschuß von Futter im Käfig belassen wurde, ist dieser Punkt ganz belanglos. Im Gegenteil, die butterfrei genährten Tiere bekamen sogar ein an Eiweiß und Kleie ein wenig reicheres Nährstoffgemisch als die mit butterhaltiger Nahrung gefütterten. Eiweiß, Salze und

Gesamtcalorien wurden allen Tieren, den mit Butter wie den ohne Butter genährten, in gleicher Weise im Überschuß angeboten. Der einzige Unterschied in den beiden Nährstoffgemischen bestand darin, daß das eine 2, 5 % der Trockensubstanz Butterfett enthielt, das andere nicht. Diese Versuche liefern demnach überzeugend den Beweis, daß sowohl für junge wachsende, als auch für ausgewachsene Ratten die Zufuhr einer gewissen Menge von Butter in der Nahrung unter den gewählten Versuchsbedingungen unentbehrlich ist.

Diese Unentbehrlichkeit des Butterfettes kann mit seiner Wirkung als Wärmespender nicht in Zusammenhang stehen: denn als Brennstoff könnte das Fett, wie wir wissen, durch andere Nährstoffe ersetzt werden. Wir müssen vielmehr annehmen, daß für den Organismus bestimmte Bestandteile dieses Nahrungsfettes als solche unbedingt notwendig sind, ähnlich wie für ihn gewisse Bausteine des Eiweißmoleküls nicht wegen ihres Brennwertes, sondern um ihrer selbst willen erforderlich sind. Höchstwahrscheinlich sind nicht die Fette im streng chemischen Sinne, also Glycerinester bestimmter Fettsäuren, sondern andere im Nahrungsfett enthaltene Stoffe hier von ausschlaggebender Bedeutung. Umfassende Untersuchungen von Stepp[1]) sprechen dafür, daß Substanzen, die wir zu den Lipoiden rechnen, wesentliche auf die Dauer in der Nahrung unentbehrliche Nährstoffe darstellen. Wie fernerhin aus neuen Arbeiten amerikanischer Forscher, Osborne und Mendel[2]), sowie Mac Callum und Davis[3]) hervorgeht, haben die einzelnen natürlich vorkommenden Nahrungsfette einen verschiedenen Gehalt an derartigen lebenswichtigen Lipoiden. Versuche, die in den letzten Jahren von den genannten Autoren ausgeführt worden sind, haben ergeben, daß die Butter nicht ohne weiteres durch alle Fettarten ersetzt werden kann. Tiere, die lange Zeit mit

---

[1]) W. Stepp, Zeitschr. f. Biol. **57,** 135; **59,** 366; **62,** 405; **66,** 339 und 365.

[2]) Th. B. Osborne u. L. B. Mendel, Journ. of Biolog. Chem. **12,** 81; **15,** 167; **16,** 423; **17,** 401; **20,** 379; **24,** 37.

[3]) E. V. Mc. Callum und M. Davis, Journ. of Biolog. Chem. **14,** 401; **15,** 167; **19,** 245; **20,** 641; **21,** 179.

künstlichen Nahrungsgemischen gefüttert wurden, in denen als einziges Nahrungsfett Schweineschmalz, Olivenöl oder Mandelöl enthalten war, gediehen auf die Dauer fast ebenso schlecht wie fettfrei ernährte Tiere, dagegen erwies sich dem Butterfett vergleichbar das Eigelbfett und der Lebertran; nach kürzlich veröffentlichten Versuchen von Langstein und Edelstein[1]) sind Palmin und Margarine weniger günstige Nahrungsfette als Rüböl.

Diese Schlußfolgerungen stützen sich bisher auf Versuche, die nur an einer einzigen Tierart, nämlich Ratten, ausgeführt worden sind, und es erscheint berechtigt, die Frage aufzuwerfen, ob die in diesen Tierversuchen gewonnenen Erfahrungen von allgemeiner Bedeutung sind, vor allem, ob sie auch für den Menschen zutreffen. Versuche, Menschen möglichst lange fettfrei zu ernähren, dürften bisher systematisch noch nicht angestellt worden sein. Nach den eigenen tierexperimentellen Erfahrungen würde ich derartige Untersuchungen auch nicht für ratsam halten, ja eine längere Zeit fortgesetzt strikt fettfreie Ernährung als höchst gefährlich erachten. In dieser Auffasung bestärken mich klinische Beobachtungen an Säuglingen und jungen Kindern, die immer wieder die hohe Bedeutung des Nahrungsfettes, die Überlegenheit fetthaltiger gegenüber fettarmen Nahrungsgemischen, erkennen lassen[2]). Ohne daß es also bisher gelungen wäre, zu beweisen, daß gewisse Bestandteile des Fettes bei der Ernährung des Menschen die gleiche Rolle spielen, wie bei den Versuchstieren, den Ratten, möchte ich es unbedingt für berechtigt halten, die hier gewonnenen Schlüsse zu verallgemeinern. Sind doch viele andere Grundtatsachen der Ernährungslehre, die wir für den Menschen als gültig anerkennen, auch nur durch Tierversuche bewiesen und sind doch die Wirkungen der Fettzulagen auf den Ernährungserfolg in meinen Versuchen so eklatant, daß an der ausschlaggebenden Bedeutung dieser Fettmengen Zweifel nicht bestehen können.

So kommen wir zu der Auffassung, daß bei der Bestimmung des „Nährwertes" das Nahrungsfett in ganz ähn-

---

[1]) L. Langstein und F. Edelstein, Zeitschr. f. Kinderkrankh. **16**, 305 und **17**, 255.

[2]) H. Aron, Berl. klin. Wochenschr. **1918**, 546.

licher Weise betrachtet werden muß wie das Nahrungseiweiß. Denn genau so wie das Nahrungseiweiß hat auch das Nahrungsfett noch besondere Funktionen zu erfüllen, in denen es durch andere Nährstoffe nicht ersetzt werden kann. Bei beiden Nährstoffgruppen, Nahrungseiweiß und Nahrungsfett müssen wir demnach unterscheiden zwischen dem allen organischen Nährstoffen zukommenden Brennwerte und einem jeden einzelnen Nährstoffe eigentümlichen „Sondernährwerte“. Der „Sondernährwert“ eines Nährstoffes ist an charakteristische Eigenschaften des betreffenden Nährstoffes geknüpft; er ist der Ausdruck der besonderen Funktion, die nur von dem betreffenden Nährstoff selbst ausgeübt werden kann, und in der er im Gegensatz zu der Wirkung als Brennstoff durch andere Nährstoffe nicht vertreten werden kann. Der Sondernährwert des Nahrungseiweiß entspricht dem „Eiweißwert“ und beruht auf dem Gehalt an Aminosäuren, der Sondernährwert des Nahrungsfettes steht wahrscheinlich mit dem Vorhandensein gewisser Lipoide im Zusammenhang.

Da die verschiedenen natürlich vorkommenden Nahrungsfette in verschiedenartigster Weise aus Fetten im streng chemischen Sinne, Lipoiden und anderen akzessorischen Fettbestandteilen aufgebaut sind, ist der Sondernährwert der einzelnen Fettarten recht verschieden groß, und daher wird auch das Mindestmaß an Fett, welches für die Gesundheit bzw. für das Leben in der Nahrung erforderlich ist, je nach der Natur des Nahrungsfettes verschieden hoch zu bemessen sein. Auch hierin haben wir ja ein vollkommenes Analogon beim Eiweiß. Das Eiweißminimum, das wir in der Nahrung fordern müssen, wechselt nach der Natur und der Herkunft des Nahrungseiweißes. Es gibt biologisch höherwertige und minderwertige Eiweißkörper, je nach dem Aufbau der Eiweißkörper aus den verschiedenen Aminosäuren. Von den höherwertigen Eiweißarten (tierischer Herkunft) deckt eine geringere Menge den Bedarf als von den Eiweißkörpern geringerer biologischer Wertigkeit (meist pflanzlicher Natur). In ganz ähnlicher Weise können wir auch von höherwertigen und geringerwertigen Fettarten sprechen; die biologische Wertigkeit des Fettes scheint von seinem Gehalt an Lipoiden abzuhängen. Fehlen den Eiweißkörpern gewisse

unentbehrliche Aminosäuren, wie es z. B. beim Leim und beim Horn der Fall ist, so kann der Organismus mit diesem Eiweiß allein auf die Dauer nicht bestehen, auch wenn dessen Menge in der Nahrung noch so reichlich bemessen ist; derartige Eiweißkörper bezeichnen wir als unvollständig. Ganz entsprechend scheint es auch unvollständige Nahrungsfette zu geben, solche nämlich, die gewisse unentbehrliche Bestandteile nicht enthalten. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen an jungen wachsenden Ratten sind für die Ernährung dieser Tiere gewisse Organfette, das Butterfett, der Lebertran, das Eigelbfett als hoch- bzw. vollwertige Fettarten, dagegen das Schweineschmalz, das Olivenöl, das Mandelöl, Palmin und Margarine als minderwertige oder unvollständige Nahrungsfette zu betrachten. Um allen Mißverständnissen vorzubeugen, sei nochmals hervorgehoben, daß natürlich für die Bedeutung der Fette als Brennstoffe diese Unterscheidung in vollwertige, minderwertige und unvollständige Fettarten völlig belanglos ist, denn für diese Funktion des Nahrungsfettes bleibt nur die Calorienzahl ausschlaggebend, ebenso wie für den Brennwert des Eiweißes seine Konstitution, die Natur der darin enthaltenen Aminosäuren, ohne Bedeutung ist.

Ganz ähnlich, wie wir bisher bei der Zusammenstellung einer Nahrung für die Deckung des Eiweißbedarfes Sorge tragen und bei der Bestimmung des Nährwertes einer Nahrung prüfen, ob die Zufuhr an Eiweiß genügend ist, werden wir fortab auch auf den Fettbedarf Rücksicht nehmen und uns die Frage vorlegen müssen, ob wir die in der Nahrung enthaltenen Fettmengen als ausreichend betrachten dürfen. Für die Beurteilung des „Nährwertes" einer Nahrung wird neben der Frage des Eiweißbedarfes und des Eiweißminimums von nun ab auch die Frage des Fettbedarfes und des Fettminimums eine ausschlaggebende Rolle spielen müssen. Zahlenmäßige Angaben darüber, wie hoch wir das Fettminimum für den Menschen zu veranschlagen haben, vermögen wir vorerst natürlich noch nicht zu machen, können jedoch schon jetzt mit großer Wahrscheinlichkeit sagen, daß dieser Wert für die einzelnen Fettarten ganz verschieden hoch sein wird.

Vielleicht sind gerade die jetzigen Ernährungsbedingungen geeignet, umfassende Beobachtungen darüber anzustellen, bis zu welchem Mindestmaße der Fettgehalt der Nahrung ohne Schaden herabgesetzt werden kann, bzw. welche Fettarten eine hohe, welche eine geringere Wertigkeit für den Menschen besitzen. Andererseits mahnen die Erfahrungen der Tierversuche dringend, den Nährwert einer geringen Menge Fett, zumal des Butterfettes, nicht zu unterschätzen. Die Frage, welcher Bruchteil der Calorien, den unsere rationierten Lebensmittel liefern, durch Fett, vornehmlich durch Butterfett gedeckt wird, darf keineswegs gering veranschlagt werden. Sind wir doch bei der bisher noch ganz allgemein üblichen Methode der Nährwertberechnung nur allzugern geneigt, es als ganz belanglos zu erklären, ob der Mensch in seiner täglichen Ration 5 bis 10 g Butter erhält oder statt dessen eine calorisch äquivalente Menge Kohlenyhdrate. Ja, man könnte sich sogar die Frage vorlegen, ob es nicht entgegen den Vorschlägen und Berechnungen maßgebender Forscher doch rationell wäre, einen Teil der Kohlenhydrate menschlicher Nahrungsmittel an das Milchvieh zu verfüttern, um die Quote an Butter bzw. Milch in der menschlichen Nahrung zu erhöhen, auch wenn dieser Umweg, wie erwiesen, mit einem Calorienverlust verbunden ist[1]). Möglicherweise bedeutet eine solche kleine Einbuße an Brennstoffen doch eine wesentliche und bedeutungsvolle Steigerung des „Nährwertes“ der täglichen Nahrung, ganz ähnlich wie die Nährkraft der 2,5 °/₀ Butter enthaltenden Nahrung in unseren Versuchen die der butterfreien Nahrung bei weitem übertraf. Wir dürfen eben bei der Beurteilung dieser Fragen nicht einseitig den „Nährwert“ nach der Größe des Brennwertes bemessen und diejenige Nahrung als die an Nährwerten reichste betrachten, welche die meisten Calorien liefert, sondern wir müssen versuchen, auch den „Sondernährwert“ zu berücksichtigen und die Größe der Fettzufuhr ihrer Bedeutung entsprechend als wichtigen Faktor in Rechung zu stellen.

[1]) Paul Eltzbacher und Mitarbeiter, Die deutsche Volksernährung und der englische Aushungerungsplan. Braunschweig 1914.

Etwas ganz Ähnliches, wie wir es eben für Eiweiß und Fett kennen gelernt haben, scheint nun auch für die dritte Nährstoffgruppe, die Kohlenhydrate zu gelten. Diese Nahrungsbestandteile besitzen ebenfalls außer ihrem calorienspendenden Brennwert einen gewissen „Sondernährwert“ und sind deshalb ohne weiteres auf die Dauer in der Nahrung nicht zu entbehren. Ausgesprochene Carnivoren, wie die Raubtiere oder der Hund, vermögen allerdings sehr lange Zeit hindurch ausschließlich von Fleisch, also praktisch von Eiweiß, Fett, sowie sehr geringen Mengen Glykogen zu leben und bleiben erfahrungsgemäß vollkommen gesund. Das läßt sich aber nicht auf die Omnivoren, zu denen wir die Menschen rechnen müssen, übertragen. Wird der Mensch extrem kohlenhydratarm ernährt, so treten sehr bald abnorme Stoffwechselprodukte auf, und eine längere Zeit fortgesetzt kohlenhydratarme oder gar kohlenhydratfreie Ernährung (Fleisch und Fett) kann schon wegen der intensiven Darmfäulnis nicht als unschädlich gelten. Trotzdem spielt praktisch die Frage, ob die Kohlenhydrate in der Nahrung entbehrlich sind, bzw. welches Mindestmaß an Kohlenhydraten in der Nahrung als erforderlich angesehen werden muß, für die Ernährung des Erwachsenen nur eine untergeordnete Rolle. Der Mindestbedarf an Kohlenhydraten wird hier in der Regel reichlich gedeckt sein, zumal wenn das Eiweiß und das Fett so knapp bemessen sind, wie unter den jetzigen Ernährungsbedingungen. Anders aber beim Säugling! Hier hat man schon lange erkannt, daß das Nährstoffverhältnis, die „Korrelation der einzelnen Nährstoffe“[1]), wie man es auch genannt hat, von ausschlaggebender Bedeutung für den Ernährungserfolg sein kann, daß Verschiebungen in der für den Säugling zuträglichen Korrelation der Nährstoffe unter gewissen Bedingungen zu Störungen führen können, die man als „Ernährungsstörungen ex correlatione“ bezeichnet hat[2]).

An dieser Stelle interessiert ganz besonders, daß man den Anteil des Kohlenhydrates in der Nahrung, wie klinische Beobachtungen an Säuglingen und jungen Kindern immer wieder

[1]) L. Langstein, Festschrift des Kaiserin-Augusta-Viktoria-Hauses 1909, S. 72.

[2]) G. Bessau, Monatschr. f. Kinderheilk. 13, 431.

vor Augen führen, nicht ohne weiteres unter eine gewisse Grenze herabsetzen darf. Verabreicht man Säuglingen eine künstlich mit Eiweiß und Fett angereicherte kohlenhydratarme Nahrungsmischung („Eiweißmilch“ ohne Zuckerzusatz), so gedeihen die Kinder häufig trotz hoher Calorienzufuhr nicht[1]. Ersetzt man dann aber einen Teil des Fettes und Eiweißes durch Kohlenhydrate, so kann man meist mit einer erheblich geringeren Zahl von Calorien in der Nahrung steile Gewichtszunahmen erzielen. Diese und viele ähnliche Beobachtungen bei der Ernährung des Säuglings lehren, daß für den Gewichtsansatz eine gewisse, gar nicht unbeträchtliche Menge von Kohlenhydraten in der Nahrung unbedingt erforderlich ist. In dieser den Zuwachs des jugendlichen Individuums fördernden Wirkung können Kohlenhydrate durch die anderen Nährstoffgruppen (Fett, Eiweiß) nicht ersetzt werden. So werden wir auch den Kohlenhydraten wenigstens für den Körperansatz einen „Sondernährwert“ einräumen und einen gewissen Anteil von Kohlenhydraten in der Nahrung für das junge wachsende Kind als unentbehrlich betrachten müssen.

Nach der herrschenden Lehrmeinung war mit den drei Nährstoffgruppen Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten die Zahl der Nährstoffe erschöpft, die bei der Beurteilung des „Nährwertes“ überhaupt in Betracht zu ziehen sind. Wie ich mich in experimentellen und klinischen Untersuchungen nachzuweisen bemüht habe (l. c.), können nun aber außer diesen Nahrungsbestandteilen auch die Extraktstoffe eine bedeutungsvolle Rolle als Nährstoffe spielen.

An dieser Stelle möchte ich mich darauf beschränken, wenige Versuchsbeispiele wiederzugeben, um zu zeigen, welchen markanten „Nährwert“ vegetabilische Extraktstoffe besitzen können, verweise im übrigen aber wegen aller Einzelheiten auf meine frühere Veröffentlichung[2].

---

[1] H. Finkelstein, Lehrbuch der Säuglingskrankheiten, 3. Berlin 1912.

[2] H. Aron, Monatschr. f. Kinderheilk. 13, 359.

Diese Versuche wurden ebenfalls an jungen wachsenden Ratten angestellt. Alle Tiere erhielten als Futter die gleiche Nahrungsmischung. Sie bestand aus:

1000 g Weizenstärke,
125 „ Plasmon,
100 „ Cellulose,
50 „ Butter
1 „ Salzmischung.

Diese Nahrung enthielt Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate in einem für die Ratten als günstig erprobten Mischungsverhältnis, für eine genügende Mineralstoffzufuhr war Sorge getragen und durch den Zusatz von Cellulose (aschefreiem Filtrierpapier) dem Geschmackbedürfnis entgegengekommen. Junge Ratten, die mit dieser Nahrungsmischung gefüttert wurden, nahmen auch bei reichlichstem Nahrungsangebot — es war dauernd ein Nahrungsüberschuß im Käfig vorhanden — schlecht an Gewicht zu und gediehen nicht. Wurden den Tieren aber aus Weizenkleie dargestellte Extraktstoffe getrennt von der übrigen Nahrung einmal

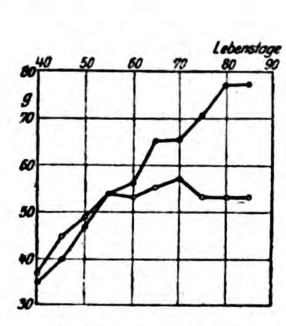


Fig. 10. Kurve 10.

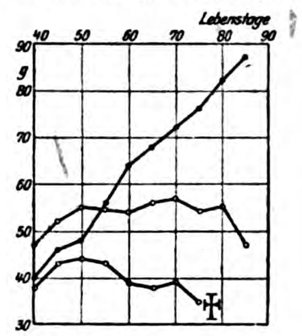


Fig. 11. Kurve 11.

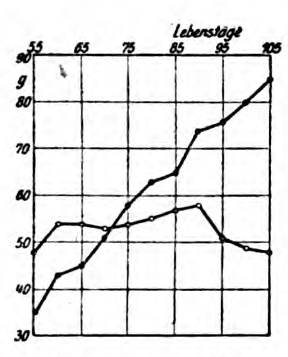


Fig. 12. Kurve 12.

am Tage in kleinen Dosen verabreicht, so stieg ihr Gewicht prompt an, und die Tiere entwickelten sich sehr gut. In den Kurven (10 bis 12) bezeichnen die hohlen Kreise Fütterung mit dem oben beschriebenen Nährstoffgemisch ohne Extraktstoffbeigabe, die vollen Kreise Zulage von Extraktstoffen. Genau wie in diesen wurde auch in zahlreichen andern Versuchsreihen der Ernährungserfolg in ausschlaggebender Weise durch die getrennt vom übrigen Futter verabreichten Extraktstoffe beeinflußt auch dann, wenn die Extraktstoffe aus anderen Vegetabilien, z. B. Gerste (Malz) bereitet wurden.

Durch diese Untersuchungen wurde damals in einwandfreier

Weise der Nachweis geführt, daß den Extraktstoffen auch bei ausreichender Eiweiß-, Fett-, Kohlenhydrat- und Salzzufuhr eine entscheidende Bedeutung für die Ernährung zukommen kann. Daß die Extraktstoffe einen „Nährwert" besitzen, kann nach diesen Versuchen nicht mehr in Zweifel gezogen werden, es fragt sich nur, welcher Art dieser „Nährwert" ist. Um die steilen Gewichtszunahmen zu erzielen, die wir in den Kurven Nr. 10 bis 12 (volle Kreise) sehen, waren etwa 80 bis 100 mg der bereiteten Extrakte erforderlich, Mengen, deren Brennwert jedenfalls gegenüber dem der übrigen Nahrung bedeutungslos erscheinen muß. Die Wirkungen der Extraktstoffe lassen sich nur dadurch erklären, daß sie besondere Funktionen erfüllen, in denen sie durch die anderen Nährstoffe nicht vertreten werden können. Die vegetabilischen Extraktstoffe haben also in ausgesprochenem Maße das, was wir beim Eiweiß und Fett als „Sondernährwert" bezeichnet hatten. Während diese Nahrungsbestandteile aber auch als Brennstoffe eine Rolle spielen, sind die Mengen vegetabilischer Extraktstoffe, die in der Nahrung erforderlich sind, so gering, daß ihr Brennwert kaum in Betracht kommt. Deshalb kann man sagen, daß der „Nährwert" der vegetabilischen Extraktstoffe fast ausschließlich auf ihrem „Sondernährwert" beruht.

Die Forschungen über die Entstehung des Skorbuts, der Beriberi und ähnlicher Erkrankungen, klinische Erfahrungen bei Säuglingen und jungen Kindern haben nun gelehrt, daß frische Vegetabilien auch für den Menschen von großer Bedeutung sind[1]). Deshalb müssen wir den frischen Gemüsen, den Früchten und unter gewissen einseitigen Ernährungsbedingungen der Getreidekleie einen besonderen „Nährwert" zuerkennen, einen Nährwert, der, wie wir jetzt wissen, auf dem Gehalt an vegetabilischen Extraktstoffen beruht.

Wenn wir den Nährwert der an Extraktstoffen reichen Nahrungsmittel, der Gemüse und Früchte, in herkömmlicher Weise nur nach ihrem Calorienwert

[1]) Wilhelm Stepp, Ergebnisse d. inn. Med. und Kinderheilk. **15**, 258 bis 364. — H. Aron, Berl. klin. Wocheuschr. **1918**, 546

oder ihrem Eiweißwert bemessen, so kommen wir zu unrichtigen Anschauungen über die Bedeutung dieser Nahrungsmittel für die menschliche Ernährung. Die übliche Form der Nährwertberechnung würde zu dem Schlusse führen, daß der Nährwert dieser Nahrungsmittel verhältnismäßig gering ist und durch kleine Mengen anderer calorienreicher Nahrungsmittel ersetzt werden kann. Tatsächlich lehrt aber die praktische Erfahrung in voller Übereinstimmung mit meinen Tierversuchen immer wieder, daß eine Ernährungsform, in der die Extraktstoffe fehlen, für den Menschen unzureichend ist. Eine solche Kost führt auch bei genügender Eiweiß-, Fett-, Kohlenhydrat-, und Mineralstoffzufuhr zu schweren Störungen der Gesundheit, die sich in skorbutartigen Krankheitserscheinungen verschiedener Form äußern und unter Umständen zum Tode führen.

Für die Beurteilung des Nährwertes des Obstes und der Gemüsearten werden wir daher die bis jetzt angewandte Form der Nährwertberechnung als durchaus ungeeignet betrachten, denn der „Nährwert“ dieser Nahrungsmittel beruht nicht so sehr auf dem Gehalt an Eiweiß, Fett oder Kohlenhydraten, als vielmehr auf ihrem Reichtum an vegetabilischen Extraktstoffen. Der Brennwert oder der Eiweißgehalt der Früchte und der Gemüse kann sehr gering, ihr „Nährwert“ aber doch sehr bedeutend sein, weil die in ihnen enthaltenen Extraktstoffe besondere Funktionen ausüben.

Wenn Pirquet[1]) in seinem „System der Ernährung“ den Nährwert der Gemüse und Früchte nach dem Nemwerte, der aus dem Trockensubstanzgehalt sich ergebenden Calorienzahl, zu berechnen versucht, wird er der Bedeutung dieser Nahrungsmittel keineswegs gerecht. Nach Nemwerten läßt sich der Nährwert, den Gemüse und Früchte gerade für Kinder besitzen, ebensowenig einschätzen, wie nach Calorien.

Experimentell ist bisher ein „Sondernährwert“ nur für vegetabilische Extraktstoffe nachgewiesen, es erscheint aber sehr wohl möglich, daß ähnliche Wirkungen auch durch Extraktstoffe anderer Herkunft, z. B. die Extraktstoffe des Fleisches ausgeübt werden. Vielleicht läßt sich auf diesem Wege auch die Frage klären, welcher Nährwert einer Fleischbrühe oder

[1]) v. Pirquet, Zeitschr. f. Kinderheilk. **14** bis **18**.

einem Fleischextrakt zukommen kann. Von einem ähnlichen Gesichtspunkt müssen wahrscheinlich auch die Wirkungen beurteilt werden, die gewisse Bestandteile der Drüsen mit innerer Sekretion bei der Verfütterung ausüben.

In den vorliegenden Ausführungen wurden ausschließlich die organischen Nahrungsbestandteile in den Kreis der Betrachtung gezogen. Es bedarf aber wohl kaum des Hinweises, daß auch die anorganischen Nahrungsbestandteile bei der Beurteilung des Nährwertes nicht ausgeschlossen werden dürfen. Der Nährwert der anorganischen Nährstoffe fällt voll und ganz unter den Begriff des „Sondernährwertes"; denn hier handelt es sich ausschließlich um ganz spezifische Wirkungen, und ein Brennwert kommt überhaupt nicht in Frage. Aus äußeren Gründen möchte ich aber auf die Frage des Nährwertes der anorganischen Nahrungsbestandteile an dieser Stelle nicht ausführlicher eingehen, zumal die Rolle gewisser, gerade physiologisch wichtiger Mineralstoffe bei der Ernährung noch völlig ungeklärt ist[1]).

Es läßt sich nicht in Abrede stellen, daß die Einführung des Begriffes „Sondernährwert" zu einer derartigen Umwälzung des Begriffes „Nährwert" führt, daß wir fortab den „Nährwert" einer Nahrung oder eines Nahrungsmittels nicht mehr in einfachen Zahlen ausdrücken können. Der „Nährwert" setzt sich eben aus mehreren vollkommen inkommensurablen Größen zusammen, dem Gesamtbrennwert und den verschiedenartigen Sonderfunktionen der einzelnen Nährstoffgruppen, die es bedingen, daß jeder Nährstoffgruppe außer ihrem Brennwert noch ein „Sondernährwert" zukommt. Der „Nährwert" der einzelnen Nahrungsmittel muß deshalb je nach der Art der in ihnen hauptsächlich enthaltenen Nährstoffe von verschiedenen Gesichtspunkten beurteilt werden, der des Fleisches anders als der des Obstes, der des Zuckes anders als der der Butter und der der Milch anders als der der Kartoffel. Erst

[1]) H. Aron, Die anorganischen Bestandteile des Tierkörpers. Handbuch f. Biochemie 1909, 1, 62 ff.

diese erweiterte Auffassung des Begriffes „Nährwert“ wird uns erlauben, die theoretischen Grundlagen unserer Ernährungslehre mit den praktischen Erfahrungen wirklich in Einklang zu bringen und die weiten Abgründe zu überbrücken, die sich häufig zwischen Theorie und Praxis klaffend auftaten.

Die wesentlichsten Punkte meiner Ausführungen lassen sich kurz in folgende Schlußsätze fassen:

Bei der Berechnung des „Nährwertes“ nach „Nährwerteinheiten“ wird häufig der Begriff des „Nährwertes“ in unzulässiger Weise mit dem Begriff des „Brennwertes“ identifiziert. Es ist nicht angängig, nur das Eiweiß als unentbehrlichen Nahrungsbestandteil anzusehen und ihm eine Sonderstellung unter den Nährstoffen zu geben, die anderen organischen Nahrungsbestandteile aber ausschließlich als Brennstoffe zu betrachten, die einander vollkommen im Verhältnis ihrer Verbrennungswärme vertreten können. Vielmehr wird nachgewiesen, daß das Nahrungsfett, die Kohlenhydrate und die Extraktstoffe bei der Ernährung Sonderwirkungen ausüben, die an charakteristische Eigenschaften dieser Nahrungsbestandteile selbst gebunden sind und daher von andern Nährstoffen nicht hervorgerufen werden können. Diese Sonderwirkungen stehen in keinem Zusammenhange mit der Fähigkeit der einzelnen Nährstoffe, Wärme zu spenden. Während man bisher nur den Nährwert des Nahrungseiweißes nach zwei verschiedenen Gesichtspunkten, seinem Brennwert und dem Eiweißwert beurteilt hat, sollte man auch bei den anderen Nährstoffen den allen organischen Nährstoffen gemeinsamen „Brennwert“ und ihren „Sondernährwert“ unterscheiden. Der „Sondernährwert“ eines Nährstoffes ist der Ausdruck derjenigen besonderen Wirkung, die nur von diesem Nährstoff ausgeübt werden kann, und die sich im Gegensatz zu der Wirkung als Brennstoff durch andere Nährstoffe nicht ersetzen läßt.

Die Lehre, daß Kohlenhydrate und Fette im Verhältnis ihrer Verbrennungswärmen vollkommen durch andere Nährstoffe in der Nahrung vertreten werden können, bedarf gewisser Einschränkungen. Ganz besondere praktische Bedeutung hat der experimentell erbrachte Nachweis, daß das Nahrungs-

fett nicht restlos durch Kohlenhydrat in der Nahrung ersetzt werden kann. Das Nahrungsfett enthält gewisse Bestandteile, die als solche für den Organismus unentbehrlich sind. Deshalb müssen wir ähnlich, wie ein Eiweißminimum auch ein Fettminimum in der Nahrung fordern, dessen Höhe von der Natur des Nahrungsfettes, wahrscheinlich wohl von seinem Gehalt an Lipoiden abhängt.

Die Kohlenhydrate haben besondere Bedeutung für den Körperansatz und sind in dieser Wirkung durch die anderen Nährstoffgruppen nicht zu ersetzen.

Der Nährwert vieler vegetabilischer Nahrungsmittel, vor allem der Früchte und der Gemüse, läßt sich nicht nach dem Eiweißgehalt oder der Calorienzahl bemessen. Der Nährwert dieser Nahrungsmittel beruht in erster Linie auf ihrem Reichtum an vegetabilischen Extraktstoffen, denen ein hoher „Sondernährwert" zukommt, während ihr Brennwert sehr gering ist.

Bei den praktischen Fragen der Volks- und Krankenernährung darf der Nährwert der Nahrungsmittel nicht ausschließlich nach den beiden Gesichtspunkten Calorienzahl und Eiweißgehalt beurteilt werden. Der Begriff des „Sondernährwertes" gestattet den Nährwert aller Nahrungsbestandteile, vor allem des Nahrungsfettes und der vegetabilischen Extraktstoffe, richtig einzuschätzen.

Natürliche und erzwungene Glycerinbildung bei der alkoholischen Gärung.

Von

Carl Neuberg und Elsa Reinfurth.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

I.

Ableitungen.

Betrachtet man die Nebenprodukte der alkoholischen Gärung, so findet man, daß diese gleich den Haupterzeugnissen im großen und ganzen aus ihren Muttersubstanzen durch Umwandlungen hervorgehen, die sich in ihrer Gesamtheit als einfache und übersichtliche Zerfallsreaktionen darstellen. Die Bildung der Milchsäure aus dem Zucker oder die des Fuselöls aus den Aminosäuren erfolgt genau wie die Entstehung von Alkohol und Kohlensäure bei der eigentlichen alkoholischen Zuckerspaltung scheinbar durch eine glatte Auflösung bzw. durch eine Hydrolyse. In den üblichen Reaktionsgleichungen bleiben die fein abgestimmten intermediären Vorgänge einer Wasserentziehung bzw. einer abwechselnden Oxydation und Reduktion verborgen. Nur in einzelnen dieser Nebenprodukte offenbart sich ein Walten von Zwischenhandlungen, und nur bei wenigen kommen die sich im allgemeinen korrelativ abspielenden Oxydationen und Reduktionen zum Ausdruck [C. Neuberg][1]).

Spuren von Aldehyden zählen bekanntlich zu den ständigen Nebenerzeugnissen der alkoholischen Gärung und die-

[1]) C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monogr. Jena 1913.

selben sind zumeist von den zugehörigen Säuren begleitet. Aber die Mengen, um die es sich hier handelt, sind zu unbedeutend, als daß aus ihnen ein Rückschluß auf den Verlauf der Gärungsvorgänge möglich wäre. Nur bei zwei Substanzen tritt ein deutlicher und quantitativ beachtenswerter Eingriff in die einander entsprechenden Oxydationen und Reduktionen zutage, nämlich bei der Entstehung einerseits des Glycerins, andererseits der Bernsteinsäure. Zahlreiche Untersuchungen liegen über die Bildung dieser Stoffe vor, doch haben sie bisher nicht die Aufmerksamkeit der Forscher von dem erwähnten Gesichtspunkte einer Störung der korrelativen Zerfallsreaktionen aus zu erregen vermocht. Die Hauptquelle der Bernsteinsäure ist nach F. Ehrlichs[1]) wichtigem Befunde die Aminoglutarsäure. Während die alkoholische Gärung der übrigen Aminosäuren, ihrem Namen entsprechend und soweit bekannt, nach der allgemeinen Bruttogleichung

$$R.CHNH_2.COOH + H_2O = R.CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

zu Alkoholen führt, ist das Verhalten der Glutaminsäure abweichend. Bei ihrem Übergang in Bernsteinsäure handelt es sich um einen doppelten Oxydationsvorgang, dessen Phasen im einzelnen von C. Neuberg und M. Ringer festgelegt sind:

$$\underset{(I)}{COOH.CH_2.CH_2.CHNH_2.COOH} + O = NH_3 + \underset{(II)}{COOH.CH_2.CH_2.CO.COOH}$$

$$COOH.CH_2.CH_2.CO.COOH = CO_2 + \underset{(III)}{COOH.CH_2.CH_2.COH};$$

$$COOH.CH_2.CH_2.COH + O = \underset{(IV)}{COOH.CH_2.CH_2.COOH}.$$

Sie verlaufen von der Glutaminsäure (I) über die α-Ketoglutarsäure (II) sowie die β-Aldehydropropionsäure (III), und auf diesem Wege ist besonders die Endstufe bemerkenswert, weil sie auch unter völligem Luftabschluß, im Wasserstoffstrom, zur Bernsteinsäure (IV) führt[2]). Auf die Erscheinung, daß diese „anaerobe Oxydation“ am besten in Gegenwart von Zucker, d. h. bei einer gleichzeitig sich abspielenden alkoholischen Gärung, gelingt, sei schon hier die Aufmerksamkeit gelenkt.

---

[1]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. **18**, 391, 1909.

[2]) C. Neuberg und M. Ringer, diese Zeitschr. **71**, 226, 1915; **91**, 131, 1918.

Umgekehrt handelt es sich bei der Bildung des Glycerins um einen Reduktionsvorgang. Die Quelle des Glycerins bei der alkoholischen Gärung kann nach den vorliegenden Erfahrungen mit ziemlicher Sicherheit im Zucker gesucht werden; denn ein anderer Ursprung wird durch Betrachtungen über die Mengenverhältnisse unwahrscheinlich, nämlich eine Bildung aus dem Fett oder Lecithin der Hefe. Der Umstand zwar, daß die höheren, in den Lipoiden mit Glycerin verbundenen Fettsäuren im Gärgut nicht in freiem Zustande auftreten, braucht nicht unbedingt gegen eine Herkunft des Glycerins aus Fett zu sprechen; denn es wäre denkbar, daß sich im Hefestoffwechsel die Lipoidsynthese stets erneuert. Aber eine solche Annahme[1]), die ein Durchlaufen der Lipoidstufe fordert, würde nur eine Verschiebung des Problems bedeuten, da das zu den Fettstoffen synthetisierte Glycerin ja letzten Endes doch durch einen Reduktionsvorgang aus dem Zucker hervorgegangen sein muß. Auch wird eine solche Voraussetzung in hohem Maße unwahrscheinlich für die Glycerinbildung mit zellfreien Hefesäften (s. unten), die ja fettarm sind. Einer Herleitung des Glycerins aus Zellproteinen, wie sie F. R. Carraciado[2]), H. Pringsheim[3]) und F. Ehrlich[4]) befürwortet haben, ist dadurch die Stütze entzogen, daß eine ältere Angabe über das Vorkommen von Glycerin als Spaltungsprodukt zusammengesetzter Eiweißkörper, nämlich der Nucleoproteide[5]), widerlegt worden ist[6]).

Die Entstehung des Glycerins aus dem Kohlenhydrat setzt den Eintritt eines Hydrierungsvorganges an einem Spaltungsprodukt des Zuckers aus der Drei-Kohlenstoff-Reihe, die uns als Zwischenstufe jetzt geläufig ist, voraus. Eine solche Reduktion zum Glycerin ist nur verständlich im Zusammenhange mit einer ihr entsprechenden Oxydation.

Dieser Gesichtspunkt ist bei den zahlreichen bisherigen Untersuchungen über die Entstehung des Glycerins ganz außer

---

[1]) M. Delbrück, Wochenschr. f. Brauerei 20, 66, 1903.

[2]) F. R. Carraciado, Biochem. Centralbl. 3, 439, 1904.

[3]) H. Pringsheim, diese Zeitschr. 3, 283, 1907.

[4]) l. c. S. 423.

[5]) I. Bang, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 411, 1900/1901.

[6]) O. v. Fürth und E. Jerusalem, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 174, 1907. — H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 538, 1907.

acht geblieben. Infolgedessen läßt sich aus der Fülle der vorhandenen, zum Teil äußerst widerspruchsvollen Angaben kaum etwas Sicheres für den Modus, geschweige für die Bedingungen der Glycerinbildung ableiten.

Die ersten Angaben über das Auftreten von Glycerin bei der alkoholischen Gärung stammen von L. Pasteur[1]), der 2,5 bis 3,6% des Zuckergewichts in den Gärungserzeugnissen als Glycerin fand. Er betrachtete es als ein konstantes Produkt der Zuckerspaltung und bezog seine Bildung in die Gärungsgleichung mit ein, die dadurch bekanntlich die einfache Gestalt der ihr von Gay-Lussac erteilten klassischen Formulierung verlor. Diese Annahme wurde jedoch in gewissem Grade schon wenige Jahre später von M. J. Boussingault[2]) erschüttert, der bei einfacher Digestion der Hefe mit Wasser oder, wie wir heute sagen würden, bei der Autolyse Glycerinbildung feststellte. Er machte zugleich auch Angaben über den Einfluß der Temperatur auf diesen Vorgang, denen zufolge Wärmesteigerung eine Glycerinvermehrung bewirken soll. In den Jahren 1884 und 1885 teilte sodann H. Müller-Thurgau[3]) die bemerkenswerte Beobachtung mit, daß Sauerstoffzufuhr (Lüftung) eine sehr deutliche Vergrößerung der Glycerinbildung in schwach angesäuerten Mosten zur Folge hat. Da die reichliche Versorgung mit Luft die Lebensenergie und das Wachstum der Hefezellen erheblich stärkt, so schrieb der Autor diesen Faktoren die Begünstigung der Glycerinbildung zu; freilich bewirkte die Ventilation nicht regelmäßig einen größeren Glyceringehalt. Im Jahre darauf nahm Müller-Thurgau[4]) im Verlaufe der Untersuchungen über die Glycerinbildung eine recht wichtige, aber allem Anscheine nach zu wenig beachtete Klassifizierung der Gärungsprodukte vor. Als eigentliche Gärungserzeugnisse betrachtete er nur Alkohol und Kohlensäure, während er auf Atmungsvorgänge und sonstige Lebensprozesse die Bildung von Fett, Glycerin usw. bezog. Für einen inneren Zusammenhang zwischen Glycerin und Fett führte Müller-Thurgau die Beobachtung an, daß die gleichen Umstände, die den Lipoidgehalt der Hefe erhöhen, auch die Glycerinmenge im Gärgut steigern. Im Gegensatz zu Boussingault fand er eine verringerte Glycerinbildung bei Temperatursteigerungen, da der auf diese Weise sehr schnell hervorgebrachte Alkohol frühzeitig die Stoffwechseltätigkeit der Hefe einschränkt. Umgekehrt bewirkte eine Kräftigung ihrer Lebensenergie durch Zufuhr reichlicher Mengen assimilierbarer Stickstoffverbindungen die Glycerinausbeute. Als herabmindernde Einflüsse bezeichnete der

---

[1]) L. Pasteur, Ann. de chim. et de phys. [3] **58**, 356, 1860.

[2]) M. J. Boussingault, Ann. de chim. et de phys. [5] **22**, 98, 1881.

[3]) H. Müller-Thurgau, Ber. über d. Generalvers. d. deutsch. Weinbauvereins in Geisenheim **1884**, S. 61, und Ber. d. Weinbaukongr. in Colmar **1885**, S. 129.

[4]) H. Müller-Thurgau, Ber. d. deutsch. Weinbaukongr. in Rüdesheim a. Rh. **1886**, S. 66.

Autor die Gegenwart von Säuren, insbesondere von Essigsäure, Salicylsäure und schwefliger Säure. In dem Maße, wie diese Stoffe schon in geringer Menge die Lebenskraft der Hefe abschwächen, ging die Glycerinerzeugung zurück. Die ungünstige Wirkung der schwefligen Säure scheint besonders bemerkenswert im Zusammenhange mit den später mitzuteilenden Ergebnissen, die dartun, daß es sich dabei keineswegs um eine Wirkung des Sulfitions, sondern nur um eine Wirkung der freien Säure gehandelt hat. Wichtig für die Beurteilung des Glyceringehaltes natürlicher Gärungserzeugnisse ist Müller-Thurgaus weitere Feststellung, daß die in Begleitung der Hefe vielfach auftretenden Kahmpilze starke Glycerinbildner sind und besonders glycerinreiche Endmaischen liefern können, da sie außerdem noch den entstandenen Alkohol verzehren. Einer Untersuchung von J. Moritz[1]) kann man entnehmen, daß mit steigendem Zuckergehalt die absolute Menge des auftretenden Glycerins keineswegs proportional der vorhandenen Kohlenhydratmenge wächst. V. Thylmann und A. Hilger[2]) bestätigten im großen und ganzen die Befunde von Müller-Thurgau. Sie gaben als optimale Temperatur 25° an und zeigten, daß die Glycerinmenge mit fortschreitender Gärung zunimmt, indem dieselbe nach 7 Tagen viermal so groß wie nach 7 Stunden und rund dreimal so groß wie nach 1 Tage war. Im Jahre 1889 erweiterte L. v. Udránszky[3]) Boussingaults Befund einer Entstehung von Glycerin bei der Autodigestion der Hefe auch auf solches Ausgangsmaterial, das keiner Selbstgärung unterlag; hier handelt es sich wohl zum Teil um eine Spaltung von Lipoidstoffen. Den günstigen Einfluß der Versorgung mit Sauerstoff haben ebenfalls Mach und Portele[4]) sowie Kulisch[5]) betont, ebenso den einer erhöhten Stickstoffernährung sowie überhaupt förderlicher Entwicklungsbedingungen [W. Seifert und R. Reisch[6])], während die herabmindernde Wirkung von Hefegiften wie Alkohol, Essigsäure, Salicylsäure und schwefliger Säure vielfach in der Literatur, besonders auch von Kulisch angeführt worden ist. Im Gegensatz zu den meisten Erfahrungen behauptete 1894 J. Effront[7]), daß die Glycerinbildung mit dem Altern der Hefe und infolgedessen mit der Abnahme der Gärkraft zusammenhänge. Er fand einen wesentlichen Anstieg des Glycerins gegen Ende des Vorganges und erhielt z. B. aus 100 g Zucker nach 24 Stunden 0,15, nach 48 Stunden 0,35, nach 72 Stunden 0,40 und nach 96 Stunden 0,91 g Glycerin. Er schloß daraus, daß die Glycerinproduktion mit Erschöpfung und Ab-

[1]) J. Moritz, Chem.-Zeitg. **10**, 322, 1886.

[2]) V. Thylmann und A. Hilger, Arch. f. Hygiene **8**, 451, 1888.

[3]) L. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**, 539, 1889.

[4]) Mach und Portele, Landw. Versuchsstation **41**, 270, 1892.

[5]) P. Kulisch, Zeitschr. f. angew. Chem. **1896**, 418.

[6]) W. Seifert und R. Reisch, Chem. Centralbl. **1904**, II, 1330; ebenda **1907**, II, 260.

[7]) J. Effront, Compt. rend. **119**, 92, 1894.

sterben der Hefe einhergehe[1]). Abgesehen davon, daß die beobachteten Glycerinmengen überhaupt geringer als die sonst festgestellten sind und auf Besonderheiten hindeuten, wird die Effrontsche Schlußfolgerung schon durch die Tatsache widerlegt, daß bei der zellfreien Gärung (s. unten) eine beträchtliche Glycerinbildung erfolgt. Dadurch wird die Beherrschung dieses Vorganges allein von vitalen Äußerungen höchst unwahrscheinlich. In mancher Hinsicht pflichtete diesen Anschauungen einige Jahre später J. Laborde[2]) bei. Auch er erklärte die Glycerinentwicklung für abhängig von den Ernährungszuständen derart, daß die Produktion des Glycerins im umgekehrten Verhältnis zur Aktivität der Hefe stehen sollte. Je ungünstiger die Bedingungen für das übliche Hefenleben erschienen, desto größer war die Glycerinmenge, und auch die Zufuhr ungewohnter Stickstoffverbindungen, an die die Hefe im normalen Dasein nicht angepaßt war, hatte eine Steigerung der Glycerinausbeute zur Folge. Der letztgenannte Autor fand auch im Gegensatz zu anderen einen günstigen Einfluß von zugesetzten Säuren, z. B. von Weinsäure, auf die Glycerinentstehung. Er berichtete ferner über die Verdoppelung des Glycerinertrages durch eine Steigerung der Wärmezufuhr von 15 auf 35°. Die verschiedenen Hefesorten ergaben recht ungleiche Glycerinmengen; auch die als Ausgangsmaterial verwendeten Zuckerarten waren von Einfluß; die Unterschiede bei Verwendung von Traubenzucker, Fructose, Rohrzucker und Maltose waren zwar nicht beträchtlich, aber ganz auffallend erscheint die besonders günstige Wirkung der Galaktose und des invertierten Milchzuckers. Am beachtenswertesten ist in den Angaben Labordes die Feststellung, daß der sich so häufig ansiedelnde Schimmelpilz botrytis cinerea zu den kräftigsten Glycerinbildnern gehört, die wir kennen. Er soll bis 15% vom Gewicht des vorhandenen Zuckers in Glycerin umwandeln können. Die Rolle fremder Gärungserreger scheint sich auch aus den Angaben von E. Borgmann[3]), C. Amthor[4]) sowie von J. Wortmann[5]) zu ergeben; die Autoren fanden nämlich mit Reinkulturen im allgemeinen geringere Glycerinausbeuten als bei Verwendung von gewöhnlichen Betriebshefen bzw. von natürlichen Besiedlern der Weintrauben.

Während die mitgeteilten Angaben ausschließlich das Verhalten lebender Hefe betreffen, müssen auch noch die bei der zellfreien Gärung obwaltenden Umstände in Betracht gezogen werden. Über das Auftreten von Glycerin bei der zellfreien Gärung lauteten die Angaben zu verschiedenen Zeiten ungleich. E. Buchner[6]) hat zunächst angegeben, daß bei der zellfreien Gärung aus Zucker überhaupt kein Glycerin entstehe

[1]) Eine ähnliche Ansicht war schon von Brefeld (Landw. Jahrbücher **1876**, 281) geäußert.

[2]) J. Laborde, Compt. rend. **129**, 344, 1899.

[3]) E. Borgmann, Zeitschr. f. anal. Chem. **25**, 532, 1886.

[4]) C. Amthor, Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, 69, 1888.

[5]) J. Wortmann, Landw. Jahrbücher **23**, 552, 1894.

[6]) Buchner, „Zymasegärung", S. 214 u. 223.

und daß dieser dreiwertige Alkohol demnach mit dem Zuckerzerfall in Alkohol und Kohlensäure direkt nichts zu tun habe, vielmehr als ein Stoffwechselprodukt bei der Ernährung der Hefezellen mit Zucker zu betrachten sei. Später jedoch haben E. Buchner und J. Meisenheimer[1]) nicht unbeträchtliche Mengen Glycerin bei der Zuckergärung durch Hefepreßsaft, 5,6% des verbrauchten Zuckers, beobachtet. Zu noch höheren Zahlen gelangte M. Oppenheimer[2]) bei der Zuckervergärung durch Macerationssaft; er fand 3 bis 12% Glycerin vom Gewichte der angewendeten Glucose.

In dem Lehrbuch von Victor Meyer und P. Jacobson[3]) wird der Stand der Gärungsglycerin-Frage folgendermaßen zusammengefaßt: „Man ist heute der Ansicht, daß die Bildung mit der Alkoholproduktion in keinem Zusammenhange steht, das Glycerin wird vielmehr als ein Stoffwechselprodukt der Hefe angesehen, das wohl überhaupt nicht aus dem Zucker, sondern aus den fettartigen Bestandteilen des Hefekörpers entsteht.“ Und auch nachdem die Entstehung von Glycerin bei der zellfreien Gärung beobachtet worden ist, scheint A. Harden[4]) andere Bildungsweisen nicht von der Hand weisen zu wollen. Er schreibt: „It has, however been suggested that it may in reality be a product of decomposition of lipoid substances or of the nuclein of the cell.“

Von den vorhandenen Literaturstellen sind nur diejenigen berücksichtigt worden, die sich auf die hier hauptsächlich in Betracht kommenden Punkte erstrecken. Man sieht, daß vielfach Widersprüche in den Behauptungen zutage treten. Ein wesentlicher Teil derselben dürfte der Methodik zur Last fallen, namentlich bei den älteren Angaben, die sich zum Teil auf recht ungenaue analytische Verfahren zur Glycerinbestimmung stützen. Soweit eine Übereinstimmung zwischen den vorliegenden Befunden überhaupt erkennbar ist, so ergibt sich aus ihnen etwa folgende Schlußfolgerung: Die Menge des entstandenen Glycerins dürfte im allgemeinen in keinem festen Verhältnis zum gebildeten Äthylalkohol, d. h. zu dem eigentlichen Gärungsvorgange stehen. Schwach und kräftig gärwirksame Hefesorten bringen häufig das gleiche Quantum Glycerin hervor. Dieses erscheint als ein Stoffwechselprodukt. Dementsprechend haben alle Faktoren, welche die Entwickelung und Lebenstätigkeit der Gärungserreger begünstigen, bei Verwendung von frischer Hefe eine größere Glycerinausbeute zur Folge. Je energischer der Stoffwechsel der Gärungsorganismen ist, desto reichlicher ist der Glycerinertrag. Die besonders kräftige Bildung bei verstärkter Durchlüftung und erhöhter Assimilation zeigt, daß keineswegs Vergiftungs-

[1]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. **39**, 3203, 1906; **43**, 1782 u. 1794, 1910.

[2]) M. Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 45 u. 63, 1914.

[3]) Victor Meyer und P. Jacobson, **1**, I, 253.

[4]) A. Harden, Monogr., S. 95.

erscheinungen oder Äußerungen einer abgeschwächten Zelltätigkeit vorliegen. Uns interessiert im Zusammenhang mit unseren im folgenden mitgeteilten neuen Ergebnissen besonders die Erfahrung, daß jeder gesteigerte Stoffwechselvorgang bzw. direkter oder mittelbarer Sauerstoffverbrauch, kurz die Oxydationsleistungen, mit einer erhöhten Bildung des Reduktionsproduktes Glycerin einhergehen.

Bei Bewertung der älteren Angaben muß schließlich noch die Intervention der bakteriellen Glycerinbildung, insbesondere durch Kahmhefe und Schimmelpilze, in Rechnung gesetzt werden; ebenso wird der Einfluß des Schwefelns (s. die Anm. 2 auf S. 248) in Zukunft aus den später dargelegten Gründen zu berücksichtigen sein.

Als Wegweiser für andersartige Betrachtungen und darauf gegründete neue Versuche über die Entstehung des Glycerins, die, wie erwähnt, ja in letzter Linie durch einen Hydrierungsprozeß erfolgt, konnten nun die ausgedehnten Untersuchungen von Neuberg und Mitarbeitern über die nahe verwandten phytochemischen Reduktionen und die damit zusammenhängenden Vorgänge bei den zuckerfreien Gärungen dienen. Die ersten hatten ergeben, daß allgemein Aldehyde von frischer Hefe sowie von leblosem Hefematerial zu den entsprechenden Alkoholen hydriert werden, namentlich dann, wenn gleichzeitig eine alkoholische Zuckerspaltung abläuft. Zu denselben Alkoholen führt schließlich auch die sogenannte zuckerfreie Gärung, welche die α-Ketosäuren betrifft. Diese selbst entstehen durch einen Oxydationsvorgang aus den α-Aminosäuren. Bildung der α-Ketosäuren einerseits, Hydrierung der bei ihrem Zerfall entstandenen Aldehyde andererseits sind zwei einander entsprechende Reaktionen einer korrelativen Oxydation und Reduktion. Liegt bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren eine konsekutive Oxydation und Reduktion vor, bei der ein C-Atom der Muttersubstanz in Form von Kohlensäure sich aus dem Molekülverbande löst, so handelt es sich bei der alkoholischen Zuckerspaltung zunächst um einen Umbau innerhalb des Kohlenhydratmoleküls, dann aber setzen durchaus analoge Vorgänge ein. Von dem Punkte ab, wo die Brenztraubensäurestufe beim Zucker, die α-Ketosäurestufe bei den Aminosäuren erreicht ist, verlaufen die alkoholischen Gärungen des Zuckers und der Aminosäuren vollständig gleich, und zwar nicht nur der Formulierung nach, sondern auch in den tatsächlich zugrunde liegenden Geschehnissen, die von jener Stufe ab durch die-

selben oder zum mindesten von nahe verwandten Fermenten herbeigeführt werden. Die voraufgehenden Umformungen innerhalb des Zuckermoleküls sind bisher kaum bekannt. Zu einer übersichtlichen Auffassung kann man gelangen, wenn man das Methylglyoxal (Wohl) in den Mittelpunkt dieser Reaktionsfolgen rückt. Wir haben früher ausgeführt[1]), daß die Gärungsunfähigkeit der einen uns zugänglichen Form des Methylglyoxals, $CH_3.CO.COH$, nicht gegen eine solche Hypothese geltend gemacht werden kann, da vom Methylglyoxal zahlreiche andere, sowohl inaktive als optisch aktive, Formen (mindestens 10 verschiedene Modifikationen) möglich sind, die sich beim natürlichen Zuckerabbau bilden und besonders leicht zerfallen können. Vom Methylglyoxal, das sich ja als ein Anhydrid eines Zuckerhalbmoleküls ($^1/_2\,C_6H_{12}O_6 - H_2O = CH_3.CO.COH$) darstellt, führen aber geordnete Wege sowohl zu den normalen Gärungshauptprodukten Alkohol und Kohlensäure wie zu den Gärungsnebenerzeugnissen, die ihre Quelle im zerfallenden Zuckermolekül haben, zur Milchsäure, zum Acetaldehyd und zum Glycerin. Diese Überlegungen bilden einen Bestandteil des im Jahre 1913 von dem einen von uns aufgestellten Gärungsschemas, demzufolge kleine Mengen Acetaldehyd und Glycerin notwendige Nebenprodukte sein müssen[2]). Ob dabei das Methylglyoxal selbst in Glycerin übergeht oder erst nach Hydratation zu einer Triose, die auch H. D. Dakin und H. W. Dudley[3]) für möglich halten, ist gleichgültig. Daß letztere tatsächlich wenigstens teilweise (in einer Versuchsreihe durchschnittlich zu 13,6%, manchmal freilich auch nicht in größerem Umfange als Traubenzucker) von Hefe in Glycerin umgewandelt werden können, hat M. Oppenheimer (l. c.) bei Behandlung dieser Stoffe mit Hefemacerationssaft zeigen können; dieser führt sie jedoch gleichfalls und, wie es scheint, sogar in stärkerem Umfange in Milchsäure über. Die Hydrierung der Triosen zu Glycerin läßt sich als ein Vorgang betrachten[4]),

[1]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. 62, 496, 1914.

[2]) C. Neuberg, Monogr., S. 14; ferner C. Neuberg und Joh. Kerb, l. c. und diese Zeitschr. 58, 158, 1913.

[3]) H. D. Dakin und H. W. Dudley, Biochem. Journ. 14, 555, 1913.

[4]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. 62, 489, 1914.

der den bekannten phytochemischen Reduktionen anderer Carbonylverbindungen entspricht.

Aber auch losgelöst von allen Betrachtungen über die etwaige Rolle des Methylglyoxals als labile Durchgangsstufe bei der alkoholischen Gärung hatten schon früher Neuberg und Kerb[1]) eine korrelative Beziehung von Glycerin zu Brenztraubensäure bzw. Acetaldehyd ins Auge gefaßt und auf dieser Grundlage zum ersten Male eine Darstellung von Äthylalkohol auf dem Gärungswege aus einem Nichtzuckerstoff bewirkt. Der wesentliche Inhalt dieser damals nur angedeuteten Beziehung ist der, daß jedem als stabiles Endprodukt auftretenden Molekül Acetaldehyd 1 Molekül Glycerin entsprechen muß. Die beiden Wasserstoffatome, die der Acetaldehyd im Vergleich mit dem normalen Gärungsprodukt, dem Äthylalkohol, weniger enthält, sind von einem anderen Zuckerhalbmolekül aufgenommen und in Form des Glycerins in einem unveränderlichen Enderzeugnisse festgehalten.

Die Richtigkeit eines solchen Gedankenganges zu prüfen, gab uns nun das vor kurzem von uns beschriebene Verfahren[2]) der willkürlichen Festlegung der Acetaldehydstufe bei der alkoholischen Zuckerspaltung eine willkommene Gelegenheit. Unser Vorgehen besteht darin, daß wir den intermediär bei der Gärung über die Brenztraubensäure gebildeten Acetaldehyd in Form einer Komplexverbindung mit einem Salz der schwefligen Säure fixieren, die im Gegensatz zum freien Acetaldehyd von den biologischen Agenzien nicht weiter zu Äthylalkohol hydriert wird. Dabei findet, wenn so der Schlußakt aller alkoholischen Gärungsprozesse, die Reduktion des Aldehyds, ausgeschlossen wird, naturgemäß eine Störung der ineinandergreifenden Oxydations- und Reduktionsvorgänge statt. Bei der in außerordentlichem Umfange erreichten Fesselung des Gärungsacetaldehyds (Oxydationsstufe) muß ein entsprechendes Reduktionsprodukt sich anhäufen. Dasselbe muß ein Abkömmling des Zuckers sein,

[1]) C. Neuberg und Joh. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 114, 1912; Ber. **46**, 2225, 1913; diese Zeitschr. **53**, 406, 1913.

[2]) C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. **89**, 365, 1918.

da wir ausdrücklich eine Entwickelung von Wasserstoff bzw. die Entstehung einer Reduktionsstufe aus dem zur Aldehydbindung angewendeten Sulfit ausschließen konnten. Dabei erfährt, wie wir schon früher[1]) angegeben haben, die klassische Gärungsgleichung folgende Umformung:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_3.CHO + CO_2 + C_3H_8O_3.$$

Wir hatten bis 73,45 %, also rund $^3/_4$ der hiernach möglichen Aldehydmenge abgefangen und durften somit eine entsprechende Glycerinbildung erwarten. Diese Voraussetzung hat sich in vollem Maße erfüllt. Das früher durch die Formulierung $\left.\frac{C_6H_{12}O_6}{2}\right\} H_2$ ausgedrückte Reduktionsprodukt ist ja nichts anderes als Glycerin, $C_3H_8O_3$. In voller Übereinstimmung mit der Forderung der Theorie ergibt sich, daß die Festlegung jedes Moleküls Acetaldehyd die äquivalente Bildung je eines Moleküls Glycerin erzwingt. Da das Molekulargewicht des Glycerins (92) rund doppelt so hoch wie das des Acetaldehyds (44) ist, so ist die erhaltene Glycerinmenge etwa doppelt so groß wie die Aldehydausbeute. Diese Verhältnisse treten auf das deutlichste in der folgenden kleinen Übersichtstabelle zutage.

Wir fanden beispielsweise bei Anwendung von:

33 g Na_2SO_3	auf 100 g Rohrzucker:	11,90 g Acetaldehyd	u. 23,37 g Glycerin,
50 „ „	„ 100 „ „	12,52 „ „	„ 24,86 „ „ ,
75 „ „	„ 100 „ „	13,89 „ „	„ 27,61 „ „ ,
150 „ „	„ 100 „ „	18,65 „ „	„ 36,90 g „ .

Daraus ergibt sich auch folgender nicht unwichtiger analytischer Anhaltspunkt: Durch die Aldehydbestimmung, die (vergl. S. 260) schneller ausführbar ist als eine Glycerinermittelung, erlangt man zugleich Auskunft über die Glycerinmenge, die bei dem Abfangverfahren entstanden ist.

Der umgeformten Gärungsgleichung, die wir zuvor angeführt haben, ist ferner zu entnehmen, daß eine quantitative Umwandlung des Zuckers in Glycerin auf diesem Wege unmöglich ist. Nur rund die Hälfte, genau 51,11 %, vom Gewichte des Zuckers können im günstigsten Falle als Glycerin auftreten. Wir sind bis zu 35,06 % gelangt, die demnach rund 70 % der theo-

[1]) C. Neuberg und E. Reinfurth, l. c.

retisch möglichen Menge ausmachen. Man sieht, daß die Zahlen der Glycerin- und Aldehydausbeuten in nahezu vollkommener Übereinstimmung[1]) stehen.

Die auf diesem Wege gewonnenen Glycerinmengen übertreffen erheblich die vordem jemals erzielten Werte, die bei der Gärung mit lebenden Hefezellen 2,5 bis 3,6 $^0/_0$ betragen haben; und zum Unterschiede gegen früher beherrscht man jetzt die Bedingungen der Glycerinbildung. Für jene ziemlich unbedeutenden Schwankungen in der Menge des normalen Gärungsglycerins hat man ehemals mannigfache Umstände verantwortlich gemacht, wie Unterschiede im Zuckergehalt, in der Gärdauer und -temperatur, der Hefensorte und -menge, der Nährlösung, der jeweils obwaltenden Reaktion des Milieus, der Ventilation, und in geringerem Grade auch die Natur des Ausgangsmaterials (Traubenzucker, Glucose oder Saccharose). Es ist nun nicht unwahrscheinlich, daß alle diese Faktoren in letzter Linie nur irgendwie die erwähnten korrelativen Vorgänge bei der natürlichen alkoholischen Zuckerspaltung beeinflussen und — wenigstens ursprünglich — eine vermehrte Aldehydbildung bewirken oder einen ihr entsprechenden Oxydationsvorgang herbeiführen.

Scheinbar steht nun die Aldehydausbeute bei der normalen alkoholischen Gärung nicht in vollkommener Übereinstimmung mit diesen Voraussetzungen. Es treten bekanntlich für gewöhnlich nur Spuren Acetaldehyd auf, während größere Mengen auf eine sekundäre Oxydation des bereits gebildeten Gärungsäthylalkohols bezogen werden, und trotzdem dürften 2 bis 3 $^0/_0$ Glycerin ständige Begleiter des Sprits darstellen. Dabei ist nun aber folgendes zu beachten: Zunächst kennen wir nicht alle Umwandlungsprodukte des Acetaldehyds bzw. seiner Vorstufe, der Brenztraubensäure. Letztere kann z. B. auf biologischem Wege nach den Ergebnissen von G. Embden und E. Schmitz[2]) unter Ammoniakaufnahme in Alanin übergehen,

[1]) Fast ausnahmslos haben wir beobachtet, daß die Daten für Glycerin um ein geringes (etwa 1 $^0/_0$) niedriger sind, als die vorhandene Aldehydmenge erwarten läßt. Der Grund dafür besteht darin, daß die Methode der Glycerinbestimmung mit einem entsprechenden kleinen Fehler behaftet ist.

[2]) G. Embden und E. Schmitz, diese Zeitschr. **38**, 393, 1912.

etwa (im Sinne der Reaktion von Erlenmeyer und de Jong) über das Acetalanin, d. h. ohne Sauerstoff- oder Wasserstoffaufwand:

$$CH_3-CO\begin{matrix}\diagup COOH\\ \\ \end{matrix} + NH_3 + OC\begin{matrix}\diagup CH_3\\ \\ \end{matrix}-COOH = CO_2 + H_2O$$
$$+ CH_3.CO - NH.CH(CH_3).COOH.$$

Vielleicht dient auch die Brenztraubensäure im Sinne von F. Knoop und E. Kerteß[1]) unter weiterem Sauerstoffverbrauch zu unmittelbaren Acetylierungen, die tatsächlich nach O. Neubauer und K. Frommherz[2]) bei Gärungsvorgängen vorkommen. Auch der Acetaldehyd selbst kann neuen Veränderungen unterliegen. Bei der Digestion desselben mit Hefe entstehen außer Äthylalkohol noch andere Produkte[3]); die Wasserstoffaufnahme, die zum Äthylalkohol führt, ist hier natürlich nicht in Betracht zu ziehen, wohl aber Kondensation[4]) oder auch Übergang in Essigsäure[5]), die möglich erscheinen[6]). Es ist aber nicht gesagt, daß die der Glycerinbildung entsprechende Oxydation nicht auch in einem der Acetaldehydbildung äquivalenten anderen Oxydationsprozeß ihr Gegenstück (oder falls der Acetaldehyd selbst weiter umgewandelt wird, ihren endgültigen Ausdruck) haben kann. Ein solcher Vorgang liegt beispielsweise vor in der schon erwähnten Bildung von Bernsteinsäure aus der Glutaminsäure (vgl. S. 235), und da diese Oxydation auch in Abwesenheit atmosphärischen Sauerstoffes vollzogen wird, namentlich sofern gleichzeitig Zucker zerfällt, so ist es nicht ausgeschlossen, daß hierin eines der Äquivalente für die reduktive Glycerinbildung gelegen ist. Bei dieser Entstehung der Bernsteinsäure aus der Aminoglutarsäure handelt

[1]) Fr. Knoop und E. Kerteß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 264, 1911; vergl. auch M. Hensel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 93, 405, 1915.

[2]) O. Neubauer und K. Frommherz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 333, 1911.

[3]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. 58, 169, 1914.

[4]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 43, 491, 1912.

[5]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 92, 402, 1914.

[6]) Daraus ergibt sich die Aufgabe, das Schicksal des Acetaldehyds unter der Einwirkung von Hefe einer erneuten sorgfältigen Untersuchung zu unterziehen. Wir haben sie schon 1914 (diese Zeitschr. 58, 169) begonnen, aber infolge des Krieges unterbrechen müssen.

es sich bereits um einen Vorgang von beachtenswertem Umfange, indem bis zu 0,7 % Bernsteinsäure bei dem normalen Gärungsvorgange auftreten können. Übrigens schafft die oxydative Bildung eines Moleküls Bernsteinsäure je zwei Reduktionsäquivalente. Ähnliches gilt wohl ebenfalls für die Essigsäure, die bis zu 0,33 % auch bei anaerober Gärung von E. Buchner und J. Meisenheimer[1]) gefunden worden ist. Während dieselben für das Auftreten der Essigsäure ein besonderes Enzym, die Glucacetase als verantwortlich vermuteten, hat schon C. Oppenheimer[2]) die Entstehung aus Acetaldehyd in Betracht gezogen. Derartige Gärungsprodukte können bei Verwendung von frischer Hefe wieder verschwinden, da sie nach P. Mazé[3]) allem Anscheine nach von den lebenden Mikroorganismen assimiliert werden. Überhaupt ist wohl eine erheblichere Beteiligung des Acetaldehyds und besonders seiner biologischen Vorstufe, der Brenztraubensäure — sei es direkt oder indirekt —, am eigentlichen Stoffumsatz in Betracht zu ziehen, d. h. bei lebender Hefe eine Beanspruchung für die Vorgänge der Atmung, der Eiweißsynthese und des Aufbaus der übrigen Zellbestandteile[4]). Die vorliegenden Erfahrungen (s. S. 240) über die Beförderung der Glycerinbildung durch Lüftung und sonstige Maßnahmen einer Stoffwechselsteigerung sprechen durchaus in diesem Sinne. Die angeführten Verwendungsmöglichkeiten entfallen zwar größtenteils bei dem Vorgange der zellfreien Gärung; da letztere jedoch auch von einer Glycerinbildung begleitet ist, so müssen andere, vorläufig noch ungeklärte Reaktionen mit im Spiele sein. Es ist zu bedenken, daß der Verbleib von etwa 10 % Zucker bei der Gärung ohne lebende Zellen unaufgeklärt ist! Für eine Entstehung von Glycerin etwa aus Glycerinaldehyd nach dem Schema der Cannizzaroschen Reaktion ist weder ein chemischer Anhaltspunkt noch — soweit die Vorgänge mit frischer Hefe in Betracht kommen — überhaupt die zahlenmäßige Möglichkeit vorhanden. Schließlich ist die reduktive Bildung des Glycerins nicht wunderbarer als die phytochemische Reduktion,

---

[1]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. 38, 622, 1905.
[2]) C. Oppenheimer, Fermente II, 684, 1913.
[3]) P. Mazé, Annales de l'Inst. Pasteur 16, 433, 1902; 18, 277, 1904
[4]) Vergl. R. A. Kocher, Journ. of biolog. Chem. 25, 571, 1916.

die sich an zahlreichen daraufhin geprüften Carbonylverbindungen bei der normalen wie bei der zellfreien Gärung vollzieht und bei der wenigstens in einem Falle[1]) ein äquivalentes Auftreten von Acetaldehyd nachgewiesen worden ist.

Die bei der natürlichen Vergärung des Zuckers mit lebender Hefe erreichte Glycerinausbeute liegt, wie aus den angeführten Literaturangaben hervorgeht, durchschnittlich bei 3%[2]). Wir erzwingen mit unserer Methode der Festlegung der Acetaldehydstufe eine Entstehung bis zu 36,9% Glycerin (vom Gewichte des Rohrzuckers); damit ist eine Steigerung der Glycerinbildung auf das 12fache, im speziellen Falle (s. S. 264) sogar auf das 17,4fache, erreicht worden.

Der angewendete Zucker wird dabei vollständig umgesetzt, er geht außer zum Teil in Alkohol und Kohlensäure in erheblichem Umfange in Acetaldehyd und Glycerin über. Über die angegebene Glycerinausbeute hinaus ließ sich der Ertrag nicht vergrößern. Die Gründe dafür haben wir jüngst[3]) dargelegt. Sie sind hauptsächlich in der Begrenzung gelegen, die verschiedene Faktoren der korrelativen Aldehydbildung setzen. Sie bestehen im wesentlichen darin, daß die Menge fixierten Acetaldehyds abhängig von der vorhandenen Sulfitmenge ist. Letztere aber läßt sich trotz der relativen Ungiftigkeit der sekundären schwefligsauren Salze nicht beliebig erhöhen. Es ist überhaupt erstaunlich, daß ein Elektrolytzusatz in solcher Konzentration ertragen wird und zwar in Form einer Verbindung, die wie kaum eine andere in die Gärungsvorgänge selbst eingreift. Bei der anwendbaren Sulfitkonzentration erfolgt eine Dissoziation des auftretenden Acetaldehyd-Sulfitkomplexes, so daß nicht aller gebildeter Acetaldehyd auf dieser Stufe festgehalten und der nachfolgenden Hydrierung zu Äthylalkohol entzogen werden kann. Damit ist die Tatsache begründet, daß die normale alkoholische Zuckerspaltung nicht ganz zu unterdrücken ist. Die erwähnte Dissoziation wird gesteigert durch die alkalische Reaktion des

[1]) C. Neuberg und A. Lewite, diese Zeitschr. 91, 257, 1918.

[2]) Man darf wohl erwarten, daß „geschwefelte" Gärungserzeugnisse, soweit sie einen erhöhten Aldehydgehalt erlangt haben, eine entsprechende Glycerinvermehrung aufweisen werden.

[3]) C. Neuberg und E. Reinfurth, l. c. S. 380 u. 381.

benutzten sekundären Sulfits und durch die im Verlaufe der Gärung einsetzende reichliche Bildung von Natriumbicarbonat, das zum Teil in Soda übergeht. Unter Berücksichtigung der Beteiligung des Sulfits lautet nämlich die umgeformte ideale Gärungsgleichung folgendermaßen:

$$C_6H_{12}O_6 + Na_2SO_3 + H_2O = CH_3 \cdot CHOH \cdot OSO_2Na + C_3H_8O_3 + NaHCO_3.$$

Selbstverständlich ist genau so, wie wir für die Entstehung des Acetaldehyds früher gezeigt haben, die Natur der angewendeten Zuckerart von geringem Einfluß auch auf den erzielten Glycerinertrag, indem Traubenzucker, Fructose und Saccharose ziemlich dieselben Ausbeuten liefern. Die absolute Hefemenge, die zur Vollziehung der Gärung angewendet wird, ist dabei — wiederum genau so wie hinsichtlich der Aldehydausbeute — von untergeordneter Bedeutung. Zur Anwendung kamen hauptsächlich obergärige Hefearten, namentlich die Rassen M und XII des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin; daneben wurde auch käufliche Bäckereihefe benutzt. Soweit die verschiedenen Sorten Oberhefe rein, d. h. frei von Bakterien sind, können sie im großen und ganzen mit gleichem Erfolge zu den Versuchen dienen. Wir wollen bereits heute erwähnen, daß auch untergärige Bierhefe sich prinzipiell ebenso verhält, doch scheint sie wegen ihrer geringeren Widerstandskraft weniger geeignet zu sein; bei einigen Versuchen, die wir mit Unterhefe haben ausführen können, erfolgte der Zuckerumsatz in dem sulfithaltigen Milieu erheblich langsamer und schwächer. Im Zusammenhange mit der in den Literaturangaben ausgesprochenen Theorie von einem Zusammenhang zwischen Hefebeeinträchtigung und Glycerinbildung wollen wir schon jetzt bemerken, daß die angewendete Hefe (Oberhefe) in dem sulfithaltigen Gärgut nicht abstirbt, sondern auch am Ende des Versuchs lebensfähig und gärtätig bleibt. Nicht eine Abschwächung der Hefe ist für die gesteigerte Glycerinbildung maßgebend, sondern in erster Linie die Festlegung der Aldehydstufe. Die Ausbeute steigt mit der Sulfitmenge; je mehr Acetaldehyd gebunden wird, desto mehr Glycerin muß entstehen (vgl. die S. 244 angeführte Tabelle).

Wie wir in unserer ersten Mitteilung auseinandergesetzt haben, ist normalerweise der über die Brenztraubensäurestufe

gebildete Acetaldehyd der Acceptor für die Reduktionsfaktoren, die beim Übergang jedes Zuckerhalbmoleküls auf die (eine höhere Oxydationsform darstellende) Brenztraubensäurestufe auftreten. Erst die Ablenkung des Acetaldehyds zwingt diesen „Gärungswasserstoff", sich einen anderen Acceptor zu suchen. Darüber, ob dieser vorgebildet ist, oder erst durch Gleichgewichtsverschiebung infolge Fesselung der Aldehydstufe bzw. infolge von Milieuänderungen auftritt, läßt sich vorläufig nichts aussagen. Man kann auch auf Grund der experimentell abgeänderten Gärungsgleichung nicht schließen, daß bei der normalen alkoholischen Zuckerspaltung ein Zerfall des Hexosemoleküls in zwei ungleiche Hälften stattfindet, da ja, wie soeben dargelegt ist, das Auftreten eines neuen Wasserstoffacceptors in der C_3-Reihe einen Notbehelf in der Zwangslage darstellen kann, die durch die Festlegung der Aldehydstufe geschaffen wird.

Auf alle Fälle ergibt sich, daß die Entstehung von Acetaldehyd und Glycerin korrelative Vorgänge darstellen. Die Verknüpfung besteht darin, daß die Fesselung der Aldehydstufe die Glycerinentwickelung bedingt. Eine für die Fixierung geeignete Maßregel ist die Anwendung sekundärer Sulfite. Diese unterbinden die Gärungsprozesse nicht, legen aber bis zu einem bestimmten Gleichgewichte den intermediär auftretenden Acetaldehyd fest und erzwingen eine dieser Oxydationsleistung entsprechende reduktive Bildung von Gärungsglycerin in einer Ausbeute bis zu 70°/₀.

II.

Ausführungen.

In unserer Mitteilung[1]) über die Festlegung der Aldehydstufe bei der alkoholischen Gärung haben wir gezeigt, daß bei der Vergärung von Zucker mittels Hefe in Gegenwart von Dinatriumsulfit das angewendete Kohlenhydrat vollkommen verschwindet. Außer einer reichlichen Quantität Acetaldehyd, die im Gärgut in Form von acetaldehyd-schwefligsaurem Natrium, $CH_3 \cdot CHOH \cdot OSO_2Na$, vorhanden ist, entstehen relativ geringe Mengen von Alkohol sowie von freier und als Natriumbicarbonat

[1]) C. Neuberg und E. Reinfurth, l. c.

gebundener Kohlensäure. Bei der Aufstellung einer Bilanz, über die selbst später berichtet werden soll, ergab sich ein so bedeutender Fehlbetrag an kohlenstoffhaltiger Substanz, daß ein weiteres Gärungsprodukt in beträchtlicher Höhe entstanden sein mußte. Milchsäure, an die wir zunächst dachten, tritt in untergeordnetem Maße und allem Anscheine nach nicht regelmäßig auf. Die Betrachtungen, die den vorangestellten Ableitungen zugrunde liegen, veranlaßten uns, auf Glycerin zu fahnden. Dieser dreiwertige Alkohol entsteht in der Tat in erheblichem Umfange.

Das Verfahren, das zur genauen Bestimmung der gebildeten Glycerinmenge dienen sollte, mußte auf die Gegenwart der genannten anderen Gärungsprodukte Rücksicht nehmen.

Methodik.

Die exakteste Methode der Glycerinbestimmung ist die von S. Zeisel und R. Fanto. M. I. Stritar hat für sie eine besonders handliche Ausführungsform und Apparatur beschrieben. Wir arbeiteten vorwiegend nach diesem Verfahren[1]). Um es anwenden zu können, bedurfte es einer Vorbehandlung des zu analysierenden Gärgutes, durch die alle störenden Begleitstoffe ausgeschaltet wurden. Das Verfahren von Zeisel-Fanto-Stritar gründet sich auf die Überführung des Glycerins bei Behandlung mit siedender Jodwasserstoffsäure in Isopropyljodid und dessen Ermittlung an der Hand seines Jodgehaltes. Der anwesende Äthylalkohol kann leicht durch Verdampfen verjagt werden. Schwieriger ist die Entfernung der vorhandenen Acetaldehyd-Doppelverbindung. Zwar hat M. I. Stritar in Gemeinschaft mit H. Zeidler[2]) angegeben, daß kleine Mengen Acetaldehyd die Methoxylbestimmung nach dem Jodidverfahren nicht stören, allein wir haben früher gezeigt, daß der Aldehyd gar nicht in freier Form, sondern in Gestalt des Acetaldehyd-Natriumbisulfits zugegen ist. Außerdem ist die Temperatur bei der Glycerinermittelung wohl höher als bei der von den genannten Autoren geprüften Methylalkoholbestimmung, so daß möglicherweise diese Faktoren einen Einfluß auf das Verhalten des Aldehyds ausüben könnten.

---

[1]) Über die Ausführung siehe bei C. Neuberg, Der Harn, S. 209.

[2]) M. I. Stritar und H. Zeidler, Zeitschr. f. anal. Chem. 43, 392, 1904.

Namentlich ist aber die Entfernung aller Schwefelverbindungen ein unbedingtes Erfordernis bei der Ausführung des Jodidverfahrens. Aus diesem Grunde war die Fortschaffung nicht nur aller freien schwefligen Säure, sondern auch der gebundenen geboten. Da auch die möglichst weitgehende Beseitigung aller festen und gelösten Hefebestandteile wünschenswert war, schalteten wir eine voraufgehende Reinigung ein, die in folgender Behandlung bestand:

Das Gärgut wird aufgekocht und filtriert. Ein gemessener Teil des Filtrats wird sodann — genau wie wir es für die Bestimmung des Acetaldehyds früher beschrieben haben — mit einer zur Fällung allen vorhandenen Sulfits (und auch Sulfats) ausreichenden Menge 25%iger Chlorbariumlösung versetzt. Unbekümmert um den entstandenen Niederschlag fügt man dann gesättigtes Barytwasser hinzu und kocht einige Zeit, am einfachsten in einem Emailletopf auf dem Drahtnetz. Dabei wird die vorhandene Acetaldehyd-Bisulfitverbindung zerlegt, das frei werdende Sulfit gefällt und der abgespaltene Acetaldehyd teils verjagt, teils in Aldehydharz übergeführt[1]). Die Menge des Barytwassers, das zum Teil auch von dem gelösten Bicarbonat verbraucht wird, ist so zu bemessen, daß eine klar filtrierte Probe der Mischung beim Kochen unter Luftabschluß mit frischem Barytwasser keine erneute Trübung mehr aufweist.

Führt man, wie wir das häufig getan haben, nach dem früher von uns angegebenen Destillations-Titrations-Verfahren zuerst eine Aldehydbestimmung aus, so kann man die Menge des Barytwassers daraus berechnen, indem für je ein Mol. vorhandenen Aldehyds ein Mol. schweflige Säure abgespalten wird. Die Entfernung des Aldehyds nach dem der Aldehydbestimmung zugrunde liegenden Verfahren der Destillation im Wasserdampfstrom ist, sobald Glycerin ermittelt werden soll, nicht angängig, da sich dabei auch von letzterem etwas verflüchtigen kann.

[1]) Ein besonderer Versuch mit einer wäßrigen Aldehydlösung ergab, daß bei der Behandlung mit Barytwasser keine Alkyljodid liefernden Kondensationsprodukte entstehen, bzw. daß, falls kleine Mengen gebildet werden sollten, sie bei der nachfolgenden Behandlung (s. S. 253) entfernt werden.

Nach vollendeter Zersetzung der Aldehyd-Sulfit-Komplexverbindung durch das Barytwasser sättigt man die Lösung mit Kohlensäure, kocht alsdann zur Zerlegung vorhandenen Bariumbicarbonats auf und spült die ganze Mischung in einen Meßzylinder über. Die eingehaltenen Volumina waren so groß, daß die Fehler, die durch die Masse des Niederschlags bedingt werden, vernachlässigt werden konnten. Wiederum ein aliquoter Teil der durch ein Macherey-Filter sogleich klar filtrierten Lösung wurde nunmehr zur möglichsten Hintanhaltung von Glycerinverlusten im Faust-Heimschen Verdunstungskasten bei 25 bis 35^0 bis zum dicken, mit Krystallen durchsetzten Sirup eingedampft. Dieser wurde zunächst mit 96$^0/_0$igem Alkohol ausgezogen und der Alkoholextrakt durch Filtrieren von den ausgeschiedenen Salzen getrennt. Die unlöslichen Niederschläge wurden dabei quantitativ mit Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten alkoholischen Lösungen wurden darauf im Vakuum abdestilliert. (Der hier wie auch im Verlaufe der weiteren Behandlung abdestillierte Alkohol wurde nach Rektifikation stets wieder verwendet.) Der nach möglichst vollkommener Abtreibung des Alkohols hinterbliebene sirupöse Rückstand wurde alsdann in absolutem Alkohol gelöst. Die abermaligen Ausscheidungen wurden abfiltriert und quantitativ mit absolutem Alkohol ausgelaugt. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden wiederum im Vakuum konzentriert und hinterließen nunmehr einen Sirup, der sich in der Regel klar in etwa der 30fachen Menge absoluten Alkohols löste. Der Zusatz der gleichen Menge wasserfreien Äthers, der zur Vermeidung grober klumpiger Fällungen nur allmählich erfolgen darf, bewirkte eine erneute Ausscheidung von Verunreinigungen. Dieselben wurden abfiltriert und mit einem Gemisch gleicher Teile absoluten Alkohols und Äthers nachgewaschen. Die alkoholisch-ätherische Lösung wurde wiederum im Vakuum eingeengt und der hinterbliebene Sirup in etwa der 30fachen Menge Wasser aufgenommen. Durch Verdampfen auf dem Wasserbade wurden noch anhaftende Mengen Alkohol verjagt; seine Entfernung wurde vervollständigt durch noch 2maliges Abdampfen des Sirups mit der etwa 15fachen Menge Wasser. Die schließlich zurückgebliebene Substanzmenge wurde mit Wasser quantitativ in einen graduierten Meßzylinder übergespült. Diese Endlösung ist frei von Schwefel- und Halogenverbindungen. Sie stellt eine weitgehend

gereinigte Glycerinlösung dar; mit Teilen derselben werden nunmehr jedesmal 2 Kontrollbestimmungen nach dem Jodidverfahren ausgeführt[1]). Dieselben geschahen in dem von Stritar beschriebenen Apparat. Es erwies sich bei der höheren Siedetemperatur des Isopropyljodids als nötig, den oberen Teil des Apparats, den das Waschgefäß umgebenden Mantel, mit Watte zu umkleiden. Dann entweicht das Isopropyljodid gasförmig in die alkoholisches Silbernitrat enthaltenden Vorlagen. Zur Zurückhaltung beigemengten Joddampfes diente die bekannte wäßrige Aufschwemmung von besonders gereinigtem roten Phosphor, in einem Teil der Versuche auf Empfehlung von Prof. Stritar[2]) auch eine 8%ige Lösung von Brechweinstein, die sich uns sehr bewährt hat.

Bezüglich der Genauigkeit der befolgten Glycerinisolierungs- und -bestimmungsmethode können wir bemerken, daß aus einer normalen Maische, die nach Ausgärung mit Sulfit und Glycerin versetzt war, die zugefügte Quantität des letzteren zu 96 bis 99% wiedergefunden wurde.

Des öfteren haben wir auch größere Mengen des Gärguts nach dem gleichen Reinigungsverfahren behandelt und das schließlich hinterbliebene Rohglycerin der Destillation im Vakuum unterworfen. In den meisten Fällen ging dabei der Hauptsache nach reines Glycerin über. Glycerin ist auf diese Weise in größeren Mengen und durch nochmalige Destillation analysenrein erhalten worden. Trimethylenglykol, auf dessen Auftreten schon C. Neuberg und E. Färber[3]) hingewiesen haben, ist nicht immer und bei richtig gelungener Operation auch nur in kleiner Quantität zugegen. Es erscheint durchaus möglich, daß dieses Trimethylenglykol erst sekundär aus dem Glycerin hervorgeht, wobei es vorläufig dahingestellt bleiben mag, ob diese weiter gehende Reduktion durch die Hefezellen selbst oder von beigemengten fremden Spaltpilzen bzw. Bakterien besorgt wird. Mikroorganismen, die Glycerin in Trimethylenglykol umwandeln, sind mehrfach beschrieben und sogar im Leitungswasser aufgefunden worden[4]).

---

[1]) Bei diesen Mengenverhältnissen ist darauf Rücksicht zu nehmen, daß die Konzentration an Glycerin nicht größer als 5% ist, gemäß den Vorschriften für das Isopropyljodidverfahren.

[2]) M. I. Stritar, Zeitschr. f. anal. Chem. **42**, 589, 1903; Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 28, 1906.

[3]) C. Neuberg und E. Färber, diese Zeitschr. **78**, 238, 1916.

[4]) A. Freund, Wiener Monatsh. **2**, 636, 1881. — A. Fitz, Ber. **15**, 875, 1882. — A. A. Noyes und W. H. Watkins, Journ. of amer. chem. Soc. **70**, II, 114, 1896. — E. Voisenet, Chem. Centralbl. **1915**, II, 850.

Eine Vereinfachung des analytischen Verfahrens, insbesondere eine Umgehung der Behandlung mit Alkohol und Äther, ist möglich durch Reinigung des Gärgutes mittels Bleiacetat oder essigsaurem Barium, wie sie S. Zeisel und R. Fanto[1]) für die Weinanalyse empfohlen haben. Allein man erhält alsdann ungenaue Werte, weil wohl das freie Sulfit, nicht aber die in Form des Acetaldehydkomplexes gebundene schweflige Säure entfernt wird; Blei- und Barytsalz der acetaldehyd-schwefligen Säure sind nämlich in Wasser löslich[2]) und werden beim nachfolgenden Kochen mit Jodwasserstoffsäure gespalten. Dementsprechend ist die Bestimmung des Jodsilbers, das aus dem Isopropyljodid hervorgeht, dann nicht einwandfrei.

Das Glycerin kann auch durch Destillation mit überhitztem Wasserdampf im Vakuum, d. h. durch ein Vorgehen, das der technischen Darstellung aus den Seifen-Unterlaugen entspricht, aus dem Gärgut abgetrennt werden[3]). M. Nicloux[4]) hat ferner ein ähnliches Verfahren der Vakuumdestillation im Wasserdampfstrom für die Analyse des Glycerins im Blut vorgeschlagen. Mit einer Modifikation des Apparates, den der im Kriege gefallene Assistent unseres Institutes, Herr Dr. E. Welde[5]), vor 8 Jahren angegeben hat, haben wir solche Bestimmungen ausgeführt. Sie standen jedoch im allgemeinen an Genauigkeit hinter den Resultaten zurück, die nach der oben beschriebenen und auch nicht viel umständlicheren Methode erhalten wurden. Wohl aber kann man unschwer auf dem Wege der Vakuum-Dampf-Destillation schnell zu Rohglycerin in Substanz gelangen.

Der Apparat von Welde gründet sich auf eine Notiz von W. Steinkopf (Chem.-Zeitg. **32**, 517, 1908), der auch bereits die Verwendung von überhitztem Wasserdampf in Erwägung gezogen hatte. Ganz neuerdings, als unsere Untersuchungen längst abgeschlossen waren, haben C. Harries und R. Haarmann (Ber. **51**, 788, 1918) einen neuen Laboratoriumsapparat zur Wasserdampfdestillation im Vakuum empfohlen. Unsere Vorrichtung ähnelt, weil das Prinzip ja bekannt war, der ihrigen, weicht jedoch in mehreren Punkten ab. Da uns Kollegen, die den Apparat in Betrieb gesehen haben, den Wunsch nach einer Beschreibung geäußert haben, fügen wir diese an. Die Zusammenstellung und Handhabung geht aus folgender Skizze hervor.

---

[1]) S. Zeisel und R. Fanto, Zeitschr. f. anal. Chem. **42**, 549, 1903.

[2]) H. Bunte, Annal. **170**, 310, 1873.

[3]) Vgl. dazu die Angaben der Anm. 1 S. 257 sowie die älteren Erfahrungen von H. v. Törring, Zeitschr. f. angew. Chem. 2, 110 u. 362, 1889. — G. Baumert, Arch. f. Pharmac. **230**, 324, 1892. — A. Partheil, ebendas. **233**, 391, 1895. — F. Bordas und S. de Raczkowski, C. r. **124**, 240, 1897 und Ch. C. **98**, I, 226.

[4]) M. Nicloux, C. r. **136**, 559, 1903; Bull. soc. Chim. Paris [3], **29**, 283, 1903.

[5]) E. Welde, diese Zeitschr. **28**, 504, 1910.

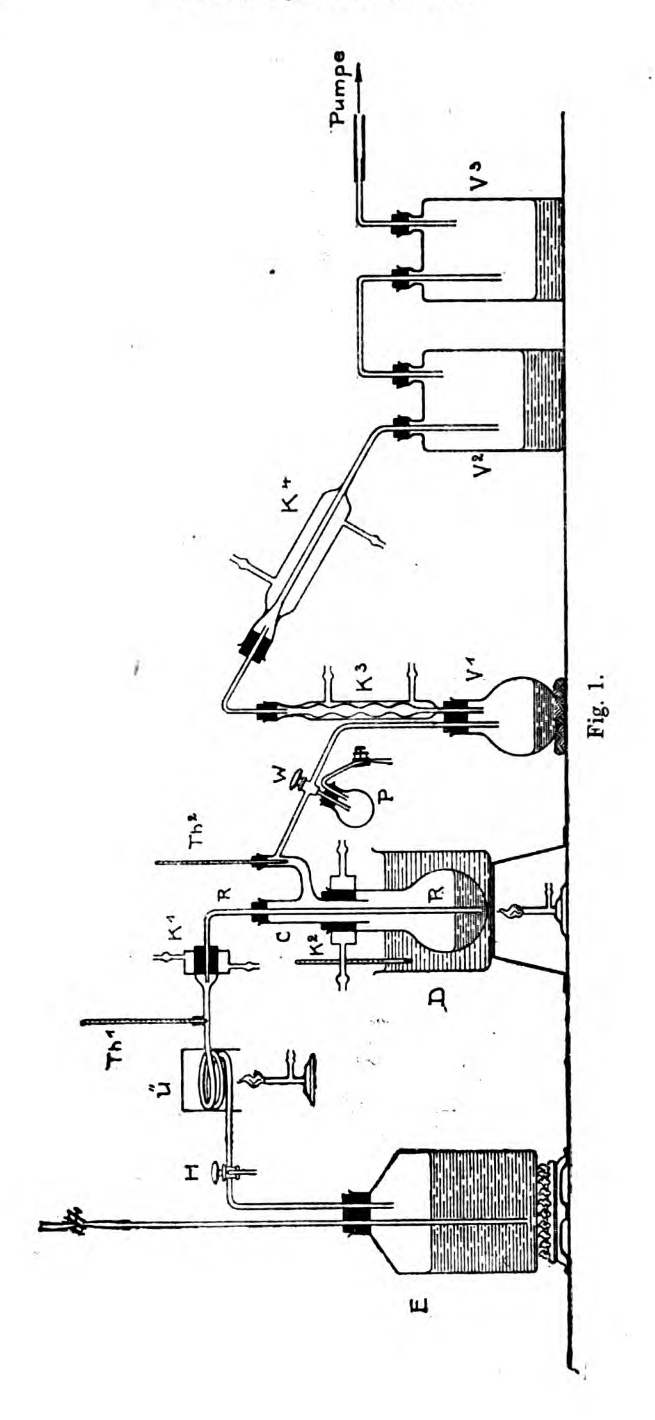


Fig. 1.

E ist ein metallener Dampfentwickler, *H* ein Dreiwegehahn mit einer groben Bohrung, die eine Verbindung mit der Atmosphäre herstellen kann, und einer feineren für den Wasserdampf. *Ü* ist der Überhitzer, der aus einer Kupferrohrspirale besteht. Th_1 ist das erste mittels einer versenkten Hülse eingelassene Thermometer. Die gesamte Verbindung von *H* bis K_1 besteht aus einem Stück Kupferrohr. Die Verlängerung von *Ü* ist an der Stelle K_1 tubusartig erweitert. Hier wird das gläserne Einleitungsrohr *R* eingeführt, durch welches der Dampf in den eigentlichen Destillationskolben *D* eintritt. Letzterer besteht wiederum aus Kupfer und trägt an der Stelle K_2 das abgesprengte Oberteil *C* eines Claisenkolbens, durch dessen geraden Schenkel das erwähnte gläserne Einleitungsrohr *R* geht. Der gebogene Schenkel trägt das Thermometer Th_2. Das Ableitungsrohr des Claisenansatzes ist abwärts gebogen und führt in die gläserne Vorlage V_1. Diese trägt den aufrecht stehenden Energiekühler K_3, der alsdann mit einem absteigenden Liebigschen Kühler K_4 verbunden ist. Letzterer mündet in die Vorlage V_2, die mit der Vorlage V_3 zusammenhängt. Von letzterer zweigt das Rohr zur Vakuumpumpe ab.

Da dieser Apparat für den Zweck einer Destillation einer sehr hoch siedenden Flüssigkeit verwendet werden soll, so besitzt er folgende Besonderheiten:

Die Stellen K_1 und K_2 sind auf Rat von Herrn Dr. K. Schwarz mit kleinen aufgelöteten Kühlmänteln aus Messing umgeben, durch die ein schwacher Wasserstrom zirkulieren kann. Diese Vorrichtung bietet den Vorteil, daß an den Stellen K_1 und K_2 eine gute Dichtung sogar mit Gummistopfen erreichbar ist, da die geringe Wasserabkühlung die Kautschukteile vor dem Verbrennen schützt. An allen anderen Stellen können ohne weiteres Gummiverschlüsse angewendet werden, so daß die lästigen Dichtungen mittels Gips oder besonderer Kitte fortfallen.

Die Anordnung der Kühler K_3 und K_4 trägt den Erfahrungen der Praxis[1]) Rechnung, die ergeben haben, daß bei der Destillation wäßrigen Glycerins die Hauptmenge des letzteren in einer ersten Vorlage (V_1) abgeschieden werden kann, während vorwiegend Wasser in die anderen Vorlagen (V_2 und V_3) übertritt. Um dieses Verhalten nach Möglichkeit auszunutzen, wird der Mantel des Kühlers K_3 mit warmem Wasser gefüllt, während K_4 in üblicher Weise mit kaltem Wasser gespeist wird.

Bei Ausführung der Destillation[2]) wurde das ganze System von *H*

---

[1]) Vgl. E. J. Wood, Chem.-Zeitg. **34**, 99, 1910; Marx und Rawolle, Ch. C. **10**, I, 591; G. Hauser, Ch. C. **10**, II, 1960; H. Dubovitz, Ch. C. **11**, II, 67.

[2]) Führt man neben dem Thermometer Th_2 noch einen Tropftrichter in den gebogenen Schenkel des Claisenansatzes ein, so kann man auch größere Flüssigkeitsmengen, als der Kolben *D* faßt, der Wasserdampfdestillation unterwerfen und auch schäumende Substanzen (vgl. E. Abderhalden, Abwehrfermente IV, S. 335) bewältigen. Verdünnte wäßrige Lösungen werden in dem Apparat vor Einschaltung des Dampfstromes durch gewöhnliche Vakuumdestillation konzentriert. — Bei leichter flüchtigen Flüssigkeiten kann man statt des kupfernen Destilliergefäßes *D* einen gläsernen Claisenkolben verwenden.

bis V_3 mit der Wasserstrahlpumpe auf 10 bis 12 mm evakuiert. Alsdann wurde das Ölbad, das den Kolben *D* umgab, allmählich auf 200° erhitzt und nunmehr durch den Hahn *H* der Wasserdampf eingeleitet, welcher im Überhitzer durchschnittlich auf die Spannung von 225° (Ablesung am Thermometer Th_1) gebracht wurde, während gleichzeitig durch stärkeres Erwärmen des Ölbades auf 240 bis 250° auch im Kolben *D* die Temperatur gesteigert wurde. Am Thermometer Th_2 kann die Temperatur des übergehenden Glycerins beobachtet werden. Um das Ende der Destillation feststellen zu können, wird an der Stelle *W* durch einen Dreiwegehahn ein kleines Rundkölbchen *P* eingeschaltet, das an den nach außen führenden Teil des Dreiwegehahns mit einem Gummistopfen angeschlossen ist. Dieser Stopfen selbst ist doppelt durchbohrt und kann auch seinerseits mit dem Vakuum verbunden werden, so daß beim Öffnen des Dreiwegehahns *W* die Druckverhältnisse unverändert bleiben. Mit der entnommenen Probe, die sich in dem (bei Gebrauch durch Eintauchen in ein Becherglas mit Wasser gekühlten) Kölbchen *P* angesammelt hat, nimmt man die von J. A. Mandel und C. Neuberg[1]) für diesen Zweck ausgearbeitete Reaktion auf Glycerin vor. Zum Schluß befindet sich die Hauptmenge des Glycerins in der Vorlage V_1, während V_2 bei richtig geleiteter Operation nur wenig und V_3 gar kein Glycerin enthalten soll.

Gäransätze und Analysen.

Die verschiedenen Gäransätze wurden im allgemeinen genau so angestellt, wie wir es früher für unsere Versuche über die Festlegung der Aldehydstufe beschrieben haben. Die dabei als am günstigsten erkannte Temperatur von 34° wählten wir auch hier. Wir verweisen auf jene Angaben und können uns darauf beschränken, im folgenden die in jedem Falle gewählte Zusammensetzung der Maische anzugeben. An einem Beispiel sei die Vorbereitung und Ausführung der Glycerinanalyse beschrieben.

1. 100 g Rohrzucker wurden mit den üblichen Nährsalzen (1 g Ammonsulfat, 0,5 g Dinatriumphosphat sowie mit einem Kryställchen Chlorkalium, Chlorcalcium und Chlormagnesium) in 500 ccm Wasser gelöst und mit 10 g obergäriger Hefe *M* bis zur gerade deutlich einsetzenden Gärung bei 34° digeriert. Alsdann fügten wir eine Auflösung von 33 g Dinatriumsulfit[2]) in 500 ccm Wasser hinzu und bewahrten das Gemisch in einem Gefäß mit

[1]) J. A. Mandel und C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 214, 1915.

[2]) Es kam zumeist ein 80 bis 85%iges Salz zur Anwendung, von dem entsprechend mehr genommen wurde. Die Verunreinigung bestand aus Natriumsulfat.

einem den Luftzutritt hindernden Gärverschluß im Brutschranke auf. Die durch den Zusatz des Sulfits unterbrochene Kohlensäureentwicklung setzte nach einigen Stunden wieder ein und hielt bis zur Beendigung des Versuches an. Es entwich jedoch bei weitem nicht die gesamte entstehende Kohlensäuremenge, da ein beträchtlicher Teil in dem alkalisch reagierenden Gärgut als Natriumbicarbonat festgehalten wird. Schon nach wenigen Stunden kann man durch die Reaktion mit Nitroprussidnatrium und Piperidin die erzwungene Änderung des Gärungsverlaufs konstatieren und in einigen Tropfen der filtrierten Lösung ohne weitere Vorbehandlung[1]) mit der genannten Probe die Anwesenheit bedeutender Mengen Acetaldehyd feststellen. Wie wir früher betont haben, erfolgt auch in der stark alkalischen Sulfitlösung die vollständige Hydrolyse des Rohrzuckers durch das Hefeninvertin, so daß man an der Hand von Drehungs- und Reduktionsvermögen das Fortschreiten und die Vervollständigung der Gärung erkennen kann. Nach 6 Tagen, während derer häufig umgeschüttelt wurde, ist dieselbe abgeschlossen. Eine durch ein Machereyfilter abgegossene und dadurch völlig klar filtrierende Probe zeigt dann kein Drehungsvermögen mehr[2]); auch äußert sie keine Reduktionskraft gegenüber der Ostschen Mischung.

Letztere ist unter den hier herrschenden Bedingungen die geeignetste alkalische Kupferlösung[3]). Sie wird nämlich, worauf wir schon

---

[1]) Siehe unsere Mitteil. diese Zeitschr. **89**, 402, 1918.

[2]) Gelegentlich beobachtet man eine auch mit der Zeit nicht verschwindende Linksdrehung, die wohl auf in Lösung gegangene Hefebestandteile zu beziehen ist. Daß es sich nicht etwa um Reste von Invertzucker oder Lävulose handelt, folgt aus dem negativen Ausfall der Zuckerreaktionen.

[3]) Die Ostsche Lösung (Ber. **23**, 1035, 1890) bietet erhebliche Vorteile vor anderen alkalischen Kupferlösungen, die zum Nachweis reduzierender Kohlenhydrate dienen. Sie ist zunächst billig und wird in der folgenden einfachen Weise bereitet: Man löst 250 g reines Kaliumcarbonat (entwässert) und 100 g Kaliumbicarbonat in Wasser und läßt langsam zur möglichsten Vermeidung einer Kohlensäureentwicklung eine Lösung von 23,5 g $CuSO_4 + 5\ H_2O$ hinzufließen; diese Mischung wird auf 1000 ccm aufgefüllt. Wie man sieht, sind teure organische Reagenzien wie Seignettesalz bzw. Mannit oder dergleichen vermieden. Hinzu kommt, daß die durch reduzierende Zucker ausgeschiedene Kupferoxydulmenge $1^1/_2$ mal bis doppelt so groß ist, wie bei Anwendung von Fehlingscher Lösung; demgemäß sind die Ausschläge schärfer. Wegen der geringeren Alkalinität rea-

früher hingewiesen haben, nicht von dem in der Lösung vorhandenen bzw. beim Erwärmen aus der Komplexverbindung abgespaltenen und sich kondensierenden Acetaldehyd verändert, während die mit Ätzkali bereitete Fehlingsche Mischung Reduktion erleidet und somit noch die Gegenwart von Zuckerresten vortäuschen kann.

Sobald kein Zucker mehr nachweisbar ist, wird das Gärgut in einen Meßzylinder übergespült und das Volumen unter Berücksichtigung der entnommenen Proben bestimmt. Die Gesamtmenge (im folgenden als Urlösung bezeichnet) betrug 1020 ccm.

Bezüglich der allgemeinen Eigenschaften des Gärgutes, seiner auch nach der Vergärung bestehenden Alkalinität, seines Gehaltes an unverändertem Dinatriumsulfit sowie an neugebildetem Natriumbicarbonat, ferner hinsichtlich des Auftretens von acetaldehyd-schwefligsaurem Natrium und der Reaktionen des letzteren, verweisen wir auf unsere frühere Beschreibung (diese Zeitschr. **89**, 402, 1918).

α) In einem aliquoten Teil, und zwar in 102 ccm (= $^1/_{10}$ der Urlösung), bestimmten wir alsdann den Acetaldehyd nach unserem vor einiger Zeit ausführlich angegebenen Destillations-Titrationsverfahren; d. h. nach voraufgegangener Ausfällung des freien Sulfits und beigemengten Sulfats mittels Chlorbarium wurde die Aldehyd-Komplexverbindung durch Destillation mit kohlensaurem Kalk erst für sich, dann im Dampfstrom zerlegt, und schließlich wurde der in einem besonderen Kühlsystem aufgefangene Aldehyd nach der Methode von Ripper-v. Fürth jodometrisch ermittelt. Gefunden wurden im Durchschnitt von zwei gut übereinstimmenden Analysen 1,19 g Acetaldehyd = 11,90$^0/_0$ vom Gewicht des angewendeten Rohrzuckers oder 11,30$^0/_0$ der in ihm enthaltenen Hexosemenge.

β) Mit einem anderen Teil nahmen wir die Glycerinbestimmung vor. Hier wie in allen übrigen Fällen verfuhren wir so, daß das Gemisch zunächst aufgekocht und filtriert wurde. Diese Behandlung bedingt keine Volumenänderung. Vom Filtrat wurde alsdann für jede Glycerinbestimmung ein Flüssigkeitsquantum in Arbeit genommen, in dem die Umwandlungsprodukte von 15 g ursprünglich angewendetem Zucker

---

gieren einfache Aldehyde mit dem Reagens nicht oder kaum, so der Acetaldehyd nicht, das Acetaldol schwach. Die Zucker der C_3-Reihe, die beispielsweise in 1$^0/_0$iger Lösung Fehlingsche Mischung in der Kälte sehr stark reduzieren, verändern ohne Erwärmen die Ostsche Lösung nur in geringem Grade bzw. langsam.

enthalten waren. Im vorliegenden Falle wurden 153 ccm (= $^{3}/_{20}$ der Urlösung) mit 40,0 ccm einer 25$^{0}/_{0}$igen Lösung von $BaCl_2 + 2\,H_2O$ ausgefällt. Ohne Rücksicht auf den Niederschlag wurde das Gemisch, das sich in einem Emailletopf befand, mit 360 ccm gesättigten Barytwassers (5$^{0}/_{0}$ig) erhitzt und $^{1}/_{2}$ Stunde in gelindem Sieden erhalten. Die Flüssigkeit, die zunächst vollkommen ohne Geruch war, entwickelte dabei einen solchen nach Acetaldehyd und bald auch nach Aldehydharz; gleichzeitig trat deutliche Gelbfärbung auf. An einigen Tropfen der über dem sich gut absetzenden Niederschlag stehenden Flüssigkeit prüfte man durch erneuten Zusatz klaren Barytwassers, ob die Ausfällung eine vollständige ist. Das war bei Einhaltung der obigen Mengenverhältnisse stets der Fall. Die entnommene Probe wird zur Hauptmenge zurückgegeben und diese nunmehr mit gasförmiger Kohlensäure behandelt. Nach Sättigung damit (Eintritt neutraler Reaktion gegen Lackmus) wird zur Zerlegung vorhandenen doppeltkohlensauren Bariums aufgekocht; nach erfolgter Abkühlung wird das gesamte Gemisch in einen Meßzylinder übergeführt und das Volumen bestimmt. Es belief sich auf 600 ccm. Von diesem Filtrat, das durch ein Machereyfilter leicht und klar filtrierte, wurden $^{2}/_{3}$ = 400 ccm verarbeitet, die 102 ccm ursprünglichem Gärgut, $^{1}/_{10}$ der Urlösung, und 10 g umgesetztem Zucker entsprachen. Das klare Filtrat wurde in einer flachen Emailleschale im Faust-Heimschen Apparat bei 32 bis 36^{0} zum Sirup eingeengt. Ohne Rücksicht auf dabei auftretende Niederschläge wurde derselbe mit 96$^{0}/_{0}$igem Alkohol, der in kleinen Anteilen zuzusetzen ist, angerührt. Kommt es zu klumpigen Ausscheidungen, so müssen diese noch in der Emailleschale mit einem stumpfen Spatel durchgearbeitet werden, bis sie in ein sandiges Pulver zerfallen; dann schließen die anorganischen Salze kein Glycerin mehr ein. Im allgemeinen genügen 100 ccm Alkohol für diese Behandlung. Fallen dabei sehr zähe Massen aus, so gießt man nach einiger Zeit den alkoholischen Auszug durch Dekantieren ab und bearbeitet den Rückstand von neuem mit 50 bis 100 ccm Sprit, worauf er die gewünschte Beschaffenheit annimmt. Die alkoholischen Extrakte werden alsdann durch ein gewöhnliches Filter filtriert und die Salzrückstände gründlich mit Alkohol der gleichen Konzentration nachgewaschen. Das alkoholische Filtrat wird nunmehr im

Vakuum aus einem Bad von etwa 35° zum dicken Sirup eingeengt. Derselbe wurde mit 150 ccm absolutem Alkohol aufgenommen, wobei wiederum anorganische Salze in leicht abfiltrierbarer Form ausfielen. Nach kurzem Stehen gießt man durch ein Filter und wäscht quantitativ mit absolutem Alkohol nach. Die gesamte alkoholische Lösung wird von neuem im Vakuum bei 30 bis 35° eingeengt. Der jetzt hinterbleibende Sirup löst sich klar in 100 ccm wasserfreiem Alkohol; der allmähliche Zusatz des gleichen Volumens absoluten Äthers bewirkt noch eine flockige Ausscheidung von Verunreinigungen. Nach einigem Stehen, sobald völlige Klärung erfolgt ist, filtriert man durch ein trockenes Filter ab und wäscht quantitativ mit einem Gemisch gleicher Teile absoluten Alkohols und Äthers nach. Die so weitgehend gereinigte alkoholisch-ätherische Lösung des Gärungsglycerins wird alsdann nochmals im Vakuum zum Sirup eingeengt. Dieser wird mit destilliertem Wasser aus dem Destillationskolben in eine Porzellanschale herausgespült, wonach das Volumen mit Waschwässern etwa 90 ccm beträgt. Durch Abdampfen auf dem Wasserbade bis auf etwa 10 ccm wird noch anhaftender Alkohol verjagt und durch noch 2 maliges Abdampfen mit je 50 ccm destilliertem Wasser dessen Vertreibung vervollständigt. Das nunmehr hinterbliebene Rohglycerin wird in einen Meßzylinder von 25 ccm übergeführt, der dann mit Wasser bis zur Marke aufzufüllen ist. Zur Glycerinbestimmung im Stritarschen Apparate wurden 3 ccm dieser Endlösung mit 15 ccm Jodwasserstoffsäure vom sp. G. 1,96 erhitzt. Wesentlich ist, daß die Temperatur in dem zur Erwärmung dienenden Ölbade anfangs auf 105 bis 110° gehalten und allmählich auf 140° gesteigert wird.

Im Durchschnitt zweier gut übereinstimmender Analysen wurde in den 3 ccm 0,2804 g Glycerin gefunden. Daraus ergibt sich für die 25 ccm, entsprechend $^1/_{10}$ Urlösung, 2,3365 g Glycerin und für den gesamten Ansatz 23,365 g Glycerin. Das sind 23,365% vom Gewichte des angewendeten Rohrzuckers oder 22,20% von der Menge der in ihm enthaltenen Monosaccharide.

---

2. Zusammen mit den Nährsalzen wurde aus 100 g Zucker eine Lösung in 500 ccm Wasser bereitet und mit 20 g obergäriger Hefe Rasse *M* versetzt. Nach begonnener Angärung

wurden 50 g wasserfreies Dinatriumsulfit in 500 ccm Wasser hinzugefügt. Die Gärung verlief bei 34 bis 35° innerhalb 5 Tagen. Gesamtvolumen = 1015 ccm. Der Acetaldehydgehalt ergab sich nach unserer Destillations-Titrationsmethode zu 12,52%, die Ausbeute an Glycerin zu 24,86% vom Gewichte des angewendeten Rohrzuckers, oder zu 11,89% bzw. 23,62% der entsprechenden Hexosenmenge.

---

3. 100 g Rohrzucker in 500 ccm ausgekochtem Wasser wurden mit den Nährsalzen und 15 g Hefe XII zusammengebracht. Dieses Gemisch wurde mit Paraffinöl in 3 cm Höhe überschichtet; nach erfolgter Angärung wurde eine Lösung von 75 g sekundärem schwefligsauren Natrium in 500 ccm Wasser, das zuvor ebenfalls luftfrei gemacht worden war, hinzugesetzt und noch 1/2 Stunde Wasserstoffgas hindurchgeleitet. Darauf wurde der Gärverschluß angebracht und das Gemisch unter häufigem Umschwenken 6 Tage im Brutschrank bei 34° belassen. Nach dieser Zeit war aller Zucker umgesetzt. Das Gesamtvolumen betrug 1030 ccm.

Der Acetaldehydgehalt war 14,62% vom Gewichte des Rohrzuckers = 13,89% der ihm entsprechenden Monosaccharide.

Der Glycerinertrag belief sich auf 29,06% vom Gewichte des Rohrzuckers = 27,61% der in ihm enthaltenen Monosaccharidmenge.

Genau wie früher bei unseren Versuchen, die allein die Aldehydbildung berücksichtigt hatten, ergab sich auch hinsichtlich der Glycerinentstehung, daß die besonderen Maßregeln zur Fernhaltung atmosphärischen Sauerstoffs keinen Einfluß ausüben.

---

4. Die Lösung von 100 g Rohrzucker in 1000 ccm Wasser wurde in Gegenwart der Nährsalze mit 10 g Hefe *M* kurze Zeit digeriert und alsdann mit einer Lösung von 150 g wasserfreiem Dinatriumsulfit in 1500 ccm Wasser vermischt. Da nach 6 Tagen noch reduzierender Zucker vorhanden war, wurden abermals 10 g Hefe hinzugefügt. Bei der großen Salzmenge ging jedoch der Versuch auch so noch nicht zu Ende, und es bedurfte einer erneuten Zugabe von weiteren 5 g Hefe am 10. Versuchstage. Darauf erwies sich nach 16 Tagen aller

Zucker als umgesetzt. Die Gärtemperatur war hier 32° gewesen. Das Gesamtvolumen betrug 3000 ccm. An Acetaldehyd waren 18,65 g, an Glycerin 36,90 g entstanden; das entspricht 18,65 % und 36,90 % des angewendeten Rohrzuckers bzw. 17,72 % und 35,06 % der äquivalenten Hexosemenge. Hier wurde die höchste Glycerinausbeute, rund 70 % der Theorie, erhalten.

Eine unter ganz gleichen Bedingungen der Zucker- and Hefenmenge sowie der Temperatur und Zeitdauer angestellter Versuch ohne schwefligsaures Salz ergab für das in 100 g Rohrzucker enthaltene Monosaccharidquantum 2,02 g Glycerin. Demgemäß beläuft sich die Steigerung der Glycerinmenge auf das 17,4 fache.

In einer größeren Anzahl anderer Fälle konnten wir uns lediglich auf die Ausführung von Glycerinbestimmungen beschränken. Da hierzu weniger Versuchsmaterial nötig war, wurde jeder Ansatz nur mit 15 g der verschiedenen Zuckerarten in folgender Weise vorgenommen:

Je 15 g Zucker wurden in 75 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe der Nährsalze mit 1,5 g Oberhefe *M* zur Angärung gebracht. Dann wurden wechselnde Mengen Sulfit hinzugesetzt, nämlich Auflösungen von 5 bis 18 g des Salzes in 75 ccm Wasser. Dementsprechend gelangten 33 bis 133 % Na_2SO_3 vom Gewichte des Zuckers zur Einwirkung und zwar auf die 10 %ige Lösung desselben.

Das Ergebnis dieser weiteren 32 Einzelversuche geht aus folgender tabellarischer Übersicht hervor:

Versuch 5 bis 36.

Glycerinausbeuten in Prozenten des angewendeten Kohlenhydrats.

Zuckerart:	ohne Sulfit %	mit 33 % Sulfit %	mit 50 % Sulfit %	mit 75 % Sulfit %	mit 100 % Sulfit %	mit 133 % Sulfit %
a) Rohrzucker	2,71	21,32	26,17	31,70	34,10	35,07
	1,91	23,37	26,82	32,00	32,42	—
	2,02	21,58	24,60	29,79	—	—
	2,71	21,77	24,45	30,97	—	—
	3,28	23,57	26,90	—	—	—
	3,33	23,06	25,28	—	—	—
b) Fructose	2,01	18,90	24,34	26,91	—	—
c) Traubenzucker	2,17	—	26,75	29,57	—	—

Die Temperatur war 33 bis 34°, die Gärdauer schwankte zwischen 4 und 35 Tagen; sie war kurz bei niedrigem Sulfitgehalt und nahm mit steigender Konzentration zu. Bei Anwendung von viel schwefligsaurem Salz war meist ein erneuter Hefezusatz angebracht.

Die Versuche zeigen, daß die Zuckerart ohne wesentlichen Einfluß auf die Glycerinausbeute ist. Nur die Verwendung der Fructose ergab einen etwas geringeren Ertrag; ob dieses Verhalten etwa mit der größeren Alkaliempfindlichkeit der Ketose oder mit anderen durch die Konstitution bedingten Abweichungen zusammenhängt, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Wir verfügen weiter über eine Reihe von Versuchen, in denen andere Konzentrationsverhältnisse gewählt waren; beispielsweise wirkte die entsprechende Sulfitmenge auf die gleiche Quantität Zucker, aber auf dessen 20%ige Lösung ein. Diese Versuchsanordnung bietet keine Vorteile, da die Gärdauer wegen des schädigenden hohen Salzgehaltes verlängert wird, zum Teil bis auf die doppelte und dreifache Zeit. In solchen stärker konzentrierten Lösungen ließen sich die Versuche überhaupt nur bis zur Anwendung von 33% vom Gewichte des Zuckers an Sulfit zu Ende führen. Bei größeren Sulfitmengen wurde der Zucker nicht mehr vollständig umgesetzt. Eine Steigerung der Glycerinausbeute wird durch Vornahme der Vergärung in höherer Konzentration praktisch nicht erreicht. Auch eine Anwendung von größeren Hefequantitäten bietet keine Vorteile.

Deutlich ist dagegen zumeist der Einfluß der Angärung, d. h. die Einleitung des Zuckerzerfalls in Abwesenheit von Sulfit und dessen Zusatz erst nach Eintritt der ersten deutlichen Kohlensäureentwicklung. Bei den voraufgehend beschriebenen Versuchen wurde immer in dieser Weise verfahren. Denn es ergab sich, daß Aldehyd- und Glycerinausbeuten dann um einige Prozente höher ausfielen. Die günstige Wirkung der Vorgärung mit nachfolgender Sulfitzugabe zeigt sich besonders bei den höheren Sulfitzusätzen. Es hängt dieses Verhalten offenbar mit dem von C. Neuberg und E. Färber[1]) erkannten Einfluß alkalisch reagierender Stoffe auf den Gärungsvorgang zusammen, indem ersichtlicherweise die vorbereitenden Vor-

---

[1]) C. Neuberg und E. Färber, l. c.

gänge des Zuckerzerfalls viel empfindlicher gegen eine erhöhte Hydroxylionen-Konzentration sind als die späteren Phasen des Gäraktes.

Schließlich haben wir zur Kontrolle auch etliche Versuche ohne Sulfitzusatz unter im übrigen gleichen Bedingungen der Zuckerkonzentration, der Hefemenge und der Temperatur ausgeführt und dabei die in der Tabelle aufgenommenen Glycerinausbeuten festgestellt. Dieselben entsprechen durchaus den bekannten normalen Werten. Die Zusammenstellung zeigt besonders deutlich den Einfluß, den die durch das Sulfit erzwungene Festlegung der Aldehydstufe auf den Prozeß der Glycerinbildung ausübt. Genau wie wir dies früher für die entwickelte Acetaldehydmenge dargetan haben, steigt auch der Glycerinertrag mit der Quantität des zugesetzten Sulfits. Gärungsaldehyd und Gärungsglycerin entstehen durch vollkommen parallel verlaufende Vorgänge. Die Fixierung eines jeden Moleküls Acetaldehyd bedingt das Auftreten je eines Moleküls Glycerin. Beide Stoffe gehen aus dem Zucker hervor und befinden sich nahezu in dem von der Theorie geforderten Mengenverhältnis zu einander im Gärgut.

Durch Anwendung unseres „Abfangverfahrens“ auf den Vorgang der alkoholischen Zuckerspaltung gelingt es, mehr als 70% der theoretisch möglichen Menge Acetaldehyd festzuhalten. Dieses Vorgehen entzieht den als Zwischenglied auftretenden Gärungsacetaldehyd der nachfolgenden Hydrierung zum Äthylalkohol, fixiert also eine Oxydationsstufe. Der durch eine entsprechende Reduktion in äquivalenter Menge angehäufte Stoff ist das Glycerin. Der experimentelle Eingriff in die biologische Reaktion macht demnach Acetaldehyd und Glycerin, die für gewöhnlich als Nebenprodukte der alkoholischen Gärung auftreten, zu Haupterzeugnissen.

Zur Pharmakologie der digitalisartigen Verbindungen.

Von

Margarete Walter.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 13. Juli 1918.)

Mit 4 Figuren im Text.

Einleitung.

Der Gedanke Paul Ehrlichs[1]), die Natur der Arzneimittelwirkungen durch Einverleibung von Farbstoffen in das lebende Tier zu enthüllen, ist von seinem Urheber selbst in mannigfaltiger Art und Weise in die Wirklichkeit umgesetzt worden, teils dadurch, daß er den Einfluß der chemischen Konstitution der Farbstoffe auf ihre Verteilung über die einzelnen Organe oder über die Bestandteile der Zellen, auf die Dauer ihres Aufenthaltes und auf ihre Ausscheidung prüfte teils dadurch, daß er direkt Farben als Heilmittel anzuwenden versuchte, wie das Methylenblau, das Trypanrot, das Neufuchsin u. a., und angeregt durch Ehrlich sind zahlreiche Forscher ähnliche Wege gegangen. Auch für die im folgenden beschriebenen, von Professor Höber veranlaßten pharmakologischen Untersuchungen bildeten den Wegweiser die Studien über vitale Färbung aus den letzten 10 Jahren, in welchen erkannt wurde, daß ebensosehr, wie die chemische Konstitution, die physikochemischen Eigenschaften der Farben, ihre Aufnahme und ihre Verankerung in den verschiedenen Zellen beherrschen (Höber, Küster, Ruhland, Schulemann, v. Möllendorff, Bethe).

---

[1]) Paul Ehrlich, Konstitution, Verteilung und Wirkung chemischer Körper. Leipzig 1893.

Schon Ehrlich hat gezeigt, daß man mit basischen Farbstoffen im Gegensatz zu den Säurefarbstoffen im allgemeinen jede Zelle vital zu färben vermag. Die Ursache dafür ist einerseits wahrscheinlich darin zu suchen, daß die Zellen für die basischen Farben viel leichter permeabel sind als für die Säurefarbstoffe, andrerseits darin, daß die basischen Farbstoffe vom Protoplasma chemisch gebunden und auf die Weise in den Zellen angereichert werden[1]). Aus denselben Gründen lassen die Zellen aber auch die basischen Farbstoffe relativ leicht wieder los; ist in der Umgebung der Zellen kein Farbstoff mehr vorhanden, so diffundiert er aus dem Zellinnern heraus, und die reversible chemische Bindung wird durch hydrolytische Spaltung rückgängig gemacht.

Anders aber bei den Säurefarbstoffen! Diese werden von weitaus den meisten tierischen Zellen, namentlich von fast allen Epithelien, nicht oder nur in Spuren eingelassen; offen stehen den Säurefarbstoffen im allgemeinen nur die Nierenepithelien und gewisse interstitielle Zellen in sämtlichen Organen[2]). Von diesen werden die Säurefarbstoffe aber um so rascher aufgenommen, je diffusibler sie sind, um so langsamer, je kolloidaler[3]); die kolloidalen Farbstoffe, die nur langsam aufgenommen werden, werden dafür aber umso kräftiger gespeichert und um so schwerer wieder losgelassen[4]); die Färbungen können unter Umständen sogar monatelang persistieren. Diese Speicherung beruht wahrscheinlich nicht auf einer chemischen Bindung, sondern auf Adsorption[5]). Die eigentlichen Ursachen dafür sind freilich ebensowenig klar, wie die Ursachen für die chemische Bindung der basischen Farbstoffe. Maßgebend ist jedenfalls

---

[1]) Siehe dazu: Herzfeld, Anatom. Hefte 54, Heft 3, 1917.

[2]) Goldmann, Beitr. z. klin. Chirurgie 64, 192, 1909; 78, 1, 1912. Evans, Schulemann und Wilborn, Deutsche med. Wochenschr. 30, 1914; Schulemann, diese Zeitschr. 80, 1917.

[3]) Siehe dazu: Höber, diese Zeitschr. 20, 1909; Küster, Jahrb. f. wissensch. Botanik 50, 261, 1911; Ruhland, ebenda 51, 376, 1912.

[4]) Schulemann, l. c., v. Möllendorff, Anatom. Hefte 53, Heft 1, 1915.

[5]) Siehe dazu: Küster, l. c., Ruhland, l. c., von Möllendorff, l. c., Schulemann, l. c., Bethe, Wiener med. Wochenschr. 14, 1916; Ferner: Rohde, Archiv f. d. ges. Physiol. 168, 411, 1917.

der saure Charakter, der den stark speicherbaren Säurefarbstoffen die Eigenschaften der negativen anodischen Kolloide verleiht. Denn außer den negativen Ultramikronen der Säurefarbstoffe werden von den genannten Bindegewebszellen auch andere negativ geladene Teilchen, wie die Ultramikronen von Silber, Gold, Platin, Palladium, wie Partikeln von Kohle oder Zinnober, sowie Bakterien aufgenommen und festgehalten[1]).

Man kann daraufhin die Annahme machen, daß beliebige chemische Verbindungen, wenn sie die Vorbedingung erfüllen, durch saure Radikale und durch ein genügend großes Molekül die Eigenschaften eines negativen Kolloids zu besitzen, dazu prädisponiert sind, im Interstitium der Organe eines lebenden Tieres lange Zeit gespeichert und nur ganz allmählich wieder in die Säfte abgegeben zu werden. Enthält die betreffende Verbindung einen pharmakologisch wichtigen Kern, so kann es auf die Weise gelingen, den Körper eines Tieres lange Zeit mit kleinen Mengen des Pharmakons zu durchsetzen und so eine protrahierte milde Wirkung auszuüben. Besonders vorteilhaft würde es sein, den wirksamen Kern in dem kolloiden Molekül so zu verankern, daß er allmählich herausgespalten werden kann.

Es war unsere Absicht, entsprechende, den Säurefarbstoffen in den physikochemischen Eigenschaften vergleichbare kolloidale Pharmaka, etwa von polypeptidähnlicher Konstitution, herzustellen. Leider hat der Krieg die begonnene Ausführung verhindert. Wir haben uns deshalb zunächst einer einfacheren Frage zugewendet. Man kann vermuten, daß die digitalisartig wirkenden Stoffe bis zu einem gewissen Grade schon die gewünschten Eigenschaften besitzen; denn erstens ist ihr Molekulargewicht ziemlich hoch, zweitens ist für manche von ihnen eine beschränkte Reversibilität in der Wirkung bekannt, was auf eine relativ feste Verankerung schließen läßt, und drittens kann auch die bei ihnen mehr oder weniger deutliche und für manche von ihnen geradezu typische kumulative Wirkung als Ausdruck einer relativ großen Speicherbarkeit angesehen werden. Andrerseits kann allerdings

[1]) Schulemann, l. c.

an der Kolloidnatur der Verbindungen gezweifelt werden, und auch für ein ausgesprochen anodisches Verhalten fehlen in dem Molekül der zu den Glykosiden gehörenden Verbindungen die negativierenden Säuregruppen. Trotzdem stellten wir uns folgende Aufgabe: als Maß des den Säurefarbstoffen analogen physikochemischen Verhaltens sollten bei mehreren der digitalisartigen Verbindungen 1. die Diffusibilität, 2. die Wanderungsrichtung im Potentialgefälle, 3. die Adsorbierbarkeit gemessen und 4. damit der Grad der Reversibilität der Herzwirkung verglichen werden. Auf Grund der vorangegangenen Betrachtung kann dann erwartet werden, daß, falls die zur Untersuchung gewählten Stoffe in verschieden ausgeprägtem Grade den Charakter von Kolloiden oder Semikolloiden besitzen und zudem negative Ladung führen, ein Zusammenhang der genannten Eigenschaften hervortritt.

Versuche.

Die Versuche erstreckten sich auf folgende Herzgifte: Digitalin amorph. (Mol.-Gew. 700), Digitalin pulv. germanic., Digipuratum, Digitalein, Helleborein (596?) Convallamarin (512), Strophanthin (796?) Ouabain (g.-Strophanthin Thoms) (598), Antiarin (521). Zum Vergleich der physikochemischen Eigenschaften wurden einige weitere Glykoside herangezogen: Amygdalin (493), Phloridzin (472), Baptisin (568). Sämtliche Präparate stammten aus der chemischen Fabrik von Merck, bis auf das Antiarin und Digipuratum; ersteres wurde uns von der Firma Böhringer, letzteres von Knoll freundlichst zur Verfügung gestellt. Die Angaben über die Molekulargewichte entnahmen wir der Abhandlung von Euler und Lundberg, über die „Glykoside“ in Abderhaldens biochemischem Handlexikon; jedoch sind sie wohl bei den meisten, besonders bei den Digitalispräparaten, nicht als sicher bekannt zu betrachten. Z. B. wird das Digipuratum als ein Tannoidpräparat angegeben, über dessen genaue chemische Zusammensetzung wir aber nichts wissen. Herkunft und Darstellung der Glykoside sind von solchem Einfluß, daß die Anwendung gleichwertiger und ganz reiner

Präparate Schwierigkeiten begegnet, wie ja aus der Digitalisliteratur genug bekannt ist.

1. Die Diffusibilität der Herzgifte. Die Diffusionsversuche wurden mit Membranen aus chromierter Gelatine ausgeführt, welche über weiten Glasröhren hergestellt waren. Der Durchmesser der Membranen betrug 15 mm, das Verhältnis der Innen- zur Außenflüssigkeit meistens 1 : 12, bei den schwerlöslichen Stoffen 1 : 5. Jedoch braucht diese Volumenverschiedenheit bei den Ergebnissen nicht in Rechnung gezogen zu werden; denn zu allen Versuchen sind Parallelversuche mit Amygdalin gemacht, um eine Norm zu haben, mit der man vergleichen konnte. Um ferner von der Ungleichheit und der Veränderlichkeit der Membranen möglichst unabhängig zu sein, wurde jede einzelne vor und nach jedem Versuch auf ihre Durchlässigkeit für Traubenzucker geprüft und nur möglichst gleichwertige zu Parallelversuchen benutzt. Die Diffusion erfolgte von innen nach außen mit äquimolekularen Lösungen der Glykoside. Bei einzelnen erforderte die geringe Löslichkeit besondere Maßnahmen. Digitalin amorph., Baptisin und Digipuratum sind in Wasser so gut wie unlöslich. Das Digipuratum wurde deshalb in 0,1 $^0/_0$iger Sodalösung zur Dialyse benutzt; Digitalin und Baptisin wurden in Alkohol gelöst, dann die alkoholische Lösung in berechneter Menge in Wasser eingetropft, so daß wir bei Digitalin mit einer 5 $^0/_0$igen, bei Baptisin mit einer 13 $^0/_0$igen alkoholischen Lösung arbeiteten. Selbstverständlich erhielt der Vergleichsversuch in Innen- und Außenflüssigkeit auch diesen Alkoholzusatz, um gleiche Versuchsbedingungen zu haben. Antiarin und Ouabain mußten bei erhöhter Temperatur untersucht werden (38^0), da die bei Zimmertemperatur gelösten Mengen für eine Bestimmung nicht ausgereicht hätten. Um ferner eine Störung der Diffusion durch ungleichmäßige Verteilung des dialysierten Anteils in der Außenflüssigkeit zu vermeiden, wurde gewöhnlich eine langsame Schüttelung unterhalten.

Die Versuchsdauer betrug stets 39 Stunden.

Die Menge der diffundierten Substanz im Außenwasser wurde bei einigen Glykosiden durch Bestimmung des bei der Hydrolyse frei werdenden Zuckers, bei anderen durch Bestimmung des sich dabei ausscheidenden festen Stoffes gefunden. Wir hielten uns dabei an Angaben über die Hydrolyse in der schon erwähnten Abhandlung von Euler und Lundberg. Durch mehrere Kontrollversuche wurde der Prozentualgehalt an Zucker oder sich ausscheidender fester Substanz festgestellt. Die Bestimmung der Digitalisglykoside erfolgte nach der Kellerschen Reaktion durch Unterschichten der Eisessiglösung mit konzentrierter Schwefelsäure und colorimetrischen Vergleich des dabei entstehenden roten Ringes.

Da uns bei unseren Versuchen einige Zweifel kamen betreffs der Reinheit von Convallamarin und Helleborein, prüften wir, ob diese evtl. bei der Dialyse in mehrere Einzelstoffe zerfielen. Wir stellten die Versuche derart an, daß beim Convallamarin nach beendigter Dia-

lyse Innen- und Außenwasser jedes für sich nochmals der Dialyse bei gleicher Anfangskonzentration unterworfen wurde. Die Differenz der dialysierten Mengen war so gering, daß man wohl eine ziemliche Reinheit der Substanz annehmen konnte. Beim Helleborein wurde das Außenwasser auf seine Herzwirkung hin geprüft; auch hier sprach der Ausfall der Prüfung nicht gegen eine Einheitlichkeit der Substanz.

Betrachten wir nun das Ergebnis unserer Diffusionsversuche, die im einzelnen wiederzugeben zu weit führen würde, so können wir je nach den in gleichen Zeiten diffundierten Anteilen eine Reihe aufstellen, die mit Amygdalin und Phloridzin als schnellst diffundierenden Stoffen beginnt und mit Helleborein als dem am langsamsten diffundierenden Stoff endigt. Die Reihe lautet:

Substanz	Mol.-Gew.	Relative Diffusibilität
Amydgalin	493	100
Phloridzin	472	91
Ouabain	598	77
Digitalein	—	59
Antiarin	521	56
Baptisin	568	50
Digitalin pulv.	—	48
Strophanthin	796?	36
Digipuratum	—	30
Digitalin amorph.	700	33—20
Convallamarin	512	17
Helleborein	596?	7

Die Zahlen der letzten Kolonne bedeuten molare Mengen diffundierter Substanz, die Menge für Amygdalin gleich 100 gesetzt.

Das schnellst diffundierende Amygdalin diffundiert also etwa 15 mal so rasch als das langsamst diffundierende Helleborein. Eine Beziehung zwischen Diffusionsgeschwindigkeit und Molekulargewicht, die erwartet werden durfte, zeigt die Tabelle nicht. Auch das beleuchtet die Unsicherheit der Angaben über die Molekulargewichte.

2. Die elektrische Ladung. Um über eine etwaige elektrische Ladung der Glykoside Aufschluß zu bekommen, wurde die Wanderungsrichtung im Potentialgefälle bestimmt.

Der dafür gebrauchte Apparat bestand aus einem U-Rohr, dessen beide Schenkel in der Mitte je durch einen Hahn mit weiter Bohrung

abgeschlossen werden konnten. Oberhalb der Hähne stand jeder Schenkel durch ein horizontal angeschmolzenes Rohrstück mit einem als Elektrodenraum dienenden Gefäß in Verbindung. An die in die beiden Elektrodengefäße eingetauchten Platinbleche wurde eine Spannung von 220 Volt angelegt. Das U-Rohr unterhalb der Hähne wurde mit der Glykosidlösung gefüllt, der übrige Apparat mit Wasser. Digitalin und Phloridzin wurden wegen ihrer Schwerlöslichkeit in alkoholisch-wässeriger Lösung untersucht; im Anoden- und Kathodengefäß befand sich dann natürlich Wasser mit dem gleichen Alkoholgehalt. Nach Öffnung der Hähne wurde der Stromkreis geschlossen.

Auf die Weise zeigte sich, daß sämtliche untersuchten Stoffe negative Ladung hatten. Bei Phloridzin fanden wir nach 24 Stunden im Anodenraum 5,2 mg von den im ganzen in das U-Rohr gegebenen 9 mg, bei Digitalin 2,5 bis 3,3 mg von im ganzen angewandten 5 mg. Für die übrigen Substanzen müssen wir uns wegen der Kleinheit der angewandten Substanzmengen auf die qualitative Angabe beschränken, daß die Ladung negativ ist.

3. Die Adsorption. Die früher öfter vertretene Ansicht, daß die Adsorption von der Natur des Adsorbens unabhängig sei, hat sich vielfach und speziell für den Fall der Adsorption von Kolloiden als unrichtig erwiesen. In dem letztgenannten Fall kommt es u. a. auch auf das gegenseitige elektrische Verhalten des Adsorptionsmittels und des Adsorbendums an. Aus diesen Gründen benutzten wir bei unseren Versuchen in Anlehnung an Freundlich und Poser[1]) mehrere Adsorbentien: 1. Blutkohle als Adsorbens mit wenig ausgesprochener elektrischer Ladung, 2. Bolus als Adsorbens mit negativer Ladung (und zwar das offizinelle Mercksche Präparat: „Professor Stumpfs sterilisierter Bolus") und 3. als positiv geladenes Adsorbens Aluminium oxydatum anhydricum (Merck).

Die Adsorptionsversuche wurden stets mit 50 ccm wässeriger Lösung in Glasflaschen mit eingeschliffenem Stopfen bei Zimmertemperatur ausgeführt. Im allgemeinen wurde 6 Stunden lang geschüttelt. Digitalin und Antiarin konnten wegen ihrer geringen Löslichkeit nicht untersucht werden; ein Zusatz von Alkohol war hier nicht möglich, da er die Adsorption beeinflußt hätte.

---

[1]) Freundlich und Poser, Kolloidchem. Beihefte 6, 297, 1914.

Der Verlauf der Versuche zeigte, daß sich in keinem Fall der Adsorption eines der Herzgifte die Verhältnisse durch die Adsorptionsisotherme ausdrücken ließen. Dagegen fanden wir häufig, daß die adsorbierten Mengen von der Konzentration des gelösten Stoffes unabhängig waren, d. h. bei verschiedenen Konzentrationen von der gleichen Menge Adsorbens gleich viel adsorbiert wurde. Wir geben dafür in der folgenden Tabelle einige Beispiele.

	Angewendet	Adsorbiert	Menge des Adsorbens	pro Gramm Adsorbens adsorbierte Menge
		Kohle:		
Strophanthin	300 mg	100 mg	0,2 g	500 mg
	600 „	300 „	0,6 „	500 „
Amygdalin	200 „	130 „	0,24 „	542 „
	800 „	490 „	0,8 „	612 „
Digitalin	100 „	25 „	0,05 „	500 „
	50 „	25 „	0,05 „	500 „
Helleborein	300 „	60 „	0,3 „	200 „
	200 „	40 „	0,2 „	200 „
		Bolus:		
Digitalin	75 mg	13 mg	3,4 g	3,8 mg
	35 „	7 „	1,7 „	4,1 „
Digipuratum	50 „	30 „	5,0 „	6,0 „
	25 „	15 „	2,7 „	5,6 „
		Aluminiumoxyd:		
Convallamarin	300 mg	50 mg	6,0 g	8,3 mg
	250 „	50 „	6,0 „	8,3 „

Ein derartiges Verhalten bei der Adsorption ist öfter festgestellt, insbesondere bei der Adsorption von Kolloiden [Biltz[1]), Freundlich und Poser[2])].

Wir sind daher auch nicht in der Lage, die Adsorbierbarkeit der von uns untersuchten Verbindungen durch die Größe von Adsorptionskoeffizienten auszudrücken. Als ungefähres Maß geben wir in der folgenden Tabelle die Mengen an,

[1]) W. Biltz, diese Zeitschr. 23, 27, 1909.

[2]) Freundlich und Poser, l. c.

die bei gleicher Ausgangskonzentration von ungefähr der gleichen Menge Kohle aufgenommen wurden.

Kohle:

	Menge des Adsorbens	Angewandte Menge Adsorbendum	Adsorbiert
Helleborein	0,3 g	300 mg	62 mg
Convallamarin	0,25 „	300 „	67 „
Strophanthin	0,24 „	300 „	100 „
Amygdalin	0,3 „	300 „	200 „
Ouabain	0,24 „	300 „	213 „
Phloridzin	0,04 g	50 mg	29 mg
Digipuratum	0,04 „	50 „	25 „
Digitalin	0,05 „	50 „	25 „

Also Helleborein und Convallamarin werden relativ wenig, Amygdalin und Ouabain relativ stark, Phloridzin, Digipuratum und Digitalin ungefähr gleich stark adsorbiert. Genau das Gegenteil hatten wir nach dem Ausfall der Diffusionsversuche erwartet, da geringe Diffusibilität als Ausdruck eines kolloiden oder semikolloiden Charakters im allgemeinen zu starker Adsorption prädisponiert.

Von einer Wiedergabe von Daten über unsere Adsorptionsversuche mit Bolus und Aluminiumoxyd sehen wir ab. Bolus adsorbiert nur sehr geringe Mengen, vielleicht wegen seiner negativen Ladung, die mit derjenigen des Adsorbens gleichsinnig war. Die Adsorption des Aluminiumoxyds verlief ähnlich regellos wie bei der Kohle.

4. Die Reversibilität der Herzwirkung. Stellen wir den physikalisch-chemischen nun die physiologischen Versuche gegenüber. Es wurde schon in der Einleitung bemerkt, daß die bekannte kumulative Wirkung der Digitalisglykoside und ihrer pharmakologischen Verwandten durch eine relativ feste Verankerung erklärt werden kann, die zur Folge hat, daß eine einmalige Zufuhr lange Zeit nachwirkt, und daß eine weitere Dosis ihre Wirkung zu der der ersten addiert. Diese Erklärung des charakteristischen Verhaltens findet ihren Ausdruck eben in der Bezeichnung „Kumulation“. Die kumulative Wirkung der verschiedenen digitalisartigen Substanzen — mögen

sie per os oder subcutan gegeben werden — ist nun verschieden groß. Die eigentlichen Digitaliskörper Digitoxin, Digitalin, Digitalein kumulieren stark, ebenso nach den Untersuchungen von von der Heide[1]) Helleborein; Strophanthin dagegen kumuliert zwar auch[2]), aber deutlich schwächer, und die Wirkung einer einmaligen Dosierung klingt rascher ab. Das Verhalten illustriert etwa folgende Tabelle nach Hatcher[3]):

Substanz	Verabreichte Prozente der letalen Dosis	Noch vorhandene Prozente nach			
		24 Std.	5×24 St.	10×24 St.	20×24 St.
Strophanthin	76	24	—	—	—
Digitoxin	55	52	46	38	17
Digitalein	65	55	15	—	—
Fol. Digitalis	66	62	45	25	—

Zur Erläuterung der Tabelle ist folgendes zu sagen: In den Versuchen wurde Katzen ein bestimmter in Prozenten ausgedrückter Bruchteil der vorher ausprobierten letalen Dosis gegeben. Am nächsten oder an den nächsten Tagen wurde dann derjenige Bruchteil der letalen Dosis festgestellt, der genügt, um das Tier zu töten. Aus der Größe dieses Bruchteils war zu entnehmen, wieviel von der ersten Dosis noch im Körper kumuliert enthalten war. Die Tabelle lehrt, daß Strophanthin erheblich weniger kumuliert als die Digitaliskörper und daß unter diesen Digitoxin am stärksten kumulativ wirkt.

Nach der genannten Auffassung der kumulativen Wirkung steht ihre Größe im umgekehrten Verhältnis zur Reversibilität der Wirkung. Letztere ist in einzelnen Fällen direkt am isolierten Herzen bestimmt worden, indem untersucht wurde, ob nach eingetretener Giftwirkung durch Auswaschen mit Ringerlösung eine Erholung zustande kommen kann. So stellte Sluytermann[4]) in Straubs Laboratorium fest, daß die

[1]) von der Heide, Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. **19**, 127, 1885.

[2]) Siehe A. Fraenkel, Arch. f. experim. Pathol u. Pharmakol. **51**, 84, 1910.

[3]) Nach Poulsson, Lehrbuch d. Pharmakologie. 3. Aufl. S. 157, 1915.

[4]) Sluytermann, Zeitschr. f. Biol. **57**, 112, 1912. Siehe ferner: Straub, diese Zeitschr. **28**, 392, 1910; Poulsson, Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. **62**, 365, 1910; Weizsäcker, ebenda **72**, 290, 1913; v. Jssekutz, ebenda **78**, 155, 1915.

Wirkung von Antiarin, Helleborein, Digitalisinfus, Oleandrin, Methylviolett und Bariumchlorid auf das Froschherz reversibel ist; die größte Reversibilität kommt dem Bariumchlorid, die geringste dem Methylviolett zu; die übrigen stehen dem Methylviolett näher als dem Bariumchlorid. An diese Versuche knüpfen unsere eigenen an.

Die Versuche wurden nach der Methode von Straub an ausgeschnittenen Herzen mittelgroßer Temporarien ausgeführt. Um einen vollständigen Abschluß des Herzens zu sichern, wurden nach dem Einführen der Kanüle in den Ventrikel noch die Hohlvenen unterbunden. Als Speisungsflüssigkeit diente Ringerlösung von der Zusammensetzung NaCl 0,65 %, KCl 0,03 %, $CaCl_2$ 0,03 %, $NaHCO_3$ 0,01 %. Die Füllung der Kanüle betrug 1 ccm. Nach der Präparation wurde das Herz so lange mit Ringerlösung durchspült, bis alle Blutreste verschwunden waren, dann noch so lange in der feuchten Kammer schlagen gelassen, bis die auf den Schreibhebel übertragenen Herzbewegungen längere Zeit konstant blieben. Danach wurde die Füllung mit Hilfe von einer Pipette entfernt und durch die Giftlösung ersetzt. Durch eine Capillare wurde während des ganzen Versuchs in langsamem Strom Sauerstoff in die Kanüle eingeleitet. Die Konzentrationen der angewandten Giftlösung wurden meistens so gewählt, daß zwischen 20 bis 30 Minuten Herzstillstand eintrat; aber auch bei weniger wirksamen Konzentrationen wurde die Vergiftungsdauer von 30 Minuten nicht überschritten, um vergleichbare Zeiten zu erhalten.

Nach dem Entfernen der Giftlösung wurde 3 mal in Zwischenräumen von 5 Minuten mit Ringerlösung gewaschen, dann beobachtet.

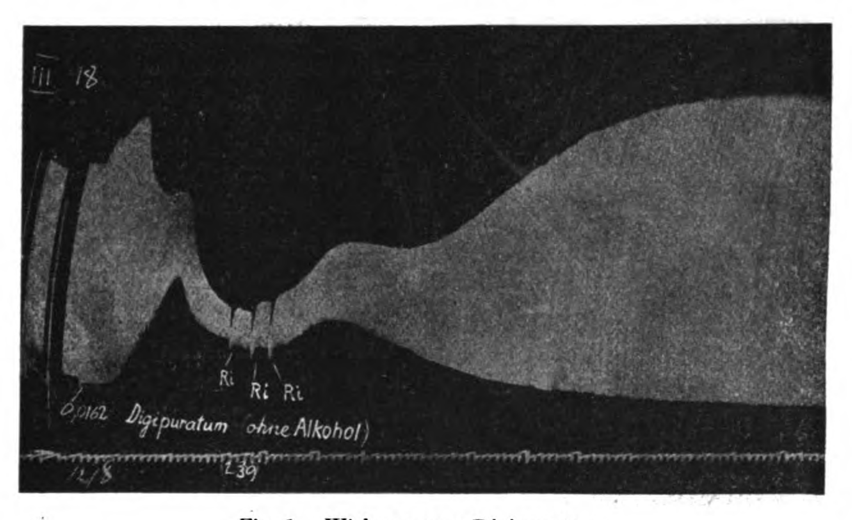
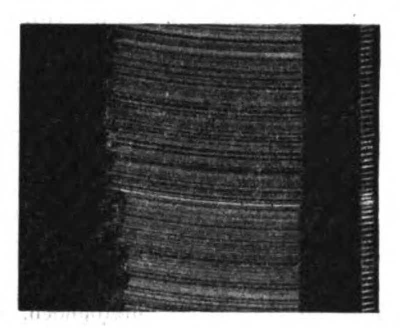
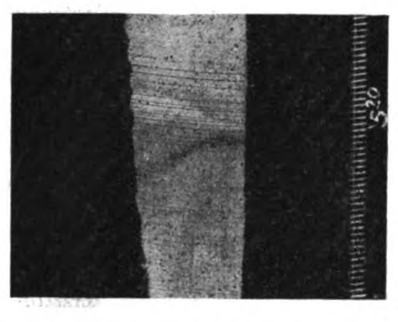


Fig. 1. Wirkung von Digipuratum.





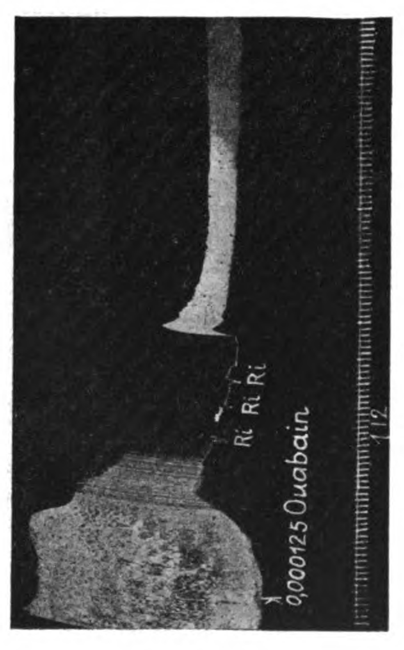


Fig. 2. Wirkung von Ouabain. *a*) Beginn des Versuchs, *b*) ca. 4 Stunden, *c*) ca. 8 Stunden nach Beginn der Entgiftung.

ob und nach welcher Zeit eine deutliche bis vollkommene Erholung eintrat.

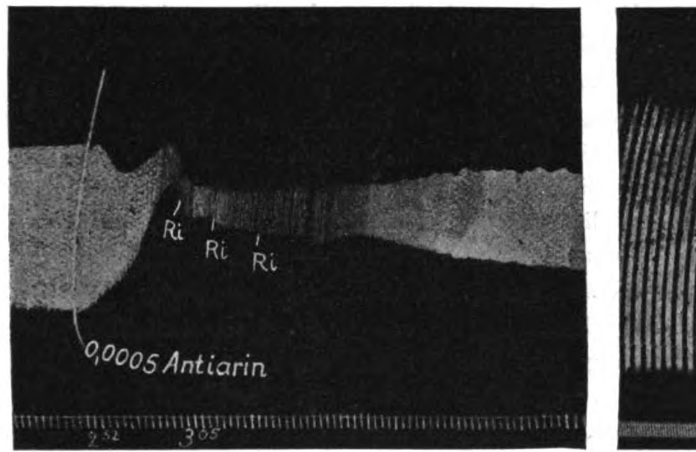
Die Versuche erstreckten sich vom Dezember bis zum Mai.

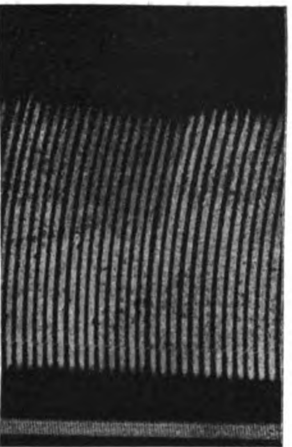
Von Digitalin amorph. und Digipuratum konnten nur annähernd bekannte Konzentrationen angewandt werden; um einen Alkohol- oder Sodazusatz wegen ihrer schädigenden Herzwirkung zu vermeiden, wurde durch dreitägiges Schütteln in Ringer gesättigte Lösung hergestellt.

Den Verlauf der Versuche schildern wir an Hand einiger Beispiele. (Die Zeitmarken unter den Herzkontraktionskurven bedeuten Minuten.)

Figur 1 gibt ein Beispiel von der Digitalis-Wirkung. Nach 21 Minuten sind die Systolen stark reduziert. Nach dem Waschen (*Ri* in der Figur) sofort Erholung. Nach ca. 1 Stunde schlägt das Herz wieder in der alten Hubhöhe und Frequenz.

Ähnliche Vergiftungs- und Reversibilitätsbilder erhielten wir auch bei den übrigen Digitalispräparaten; auch bei etwas längerer



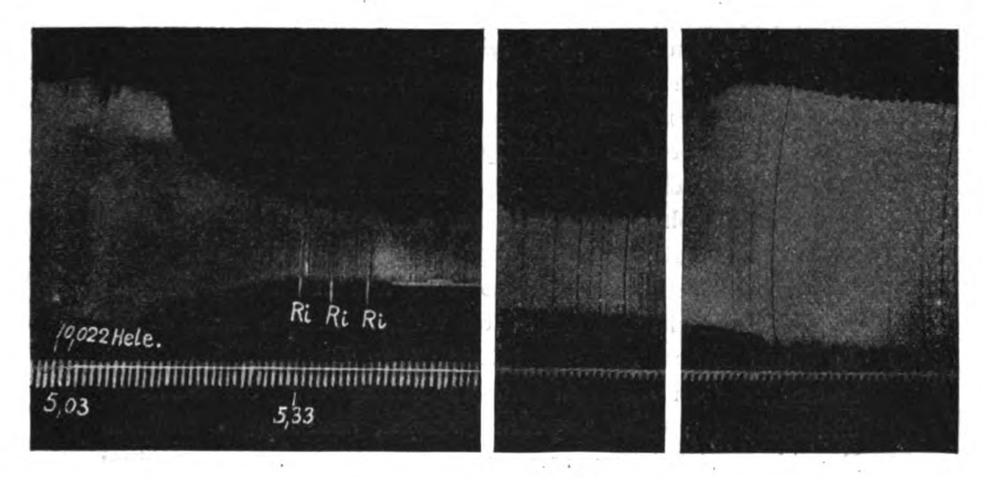


a *b*

Fig. 3. Wirkung von Antiarin. *a*) Beginn des Versuchs, *b*) ca. 9 Stunden nach Beginn der Entgiftung.

Vergiftungsdauer war nach zwei Stunden immer vollkommene Erholung erfolgt.

Figur 2 zeigt die Wirkung von 0,000125 $^0/_0$igem Ouabain. Die Hubhöhen sinken in diesem Versuch (nicht regelmäßig) nach der Vergiftung plötzlich auf 0 ab. Die Erholung erfolgt



a *b* *c*

Fig. 4. Wirkung von Helleborein. *a*) Beginn des Versuchs, *b*) ca. 4 Stunden, *c*) ca. 12 Stunden nach Beginn der Entgiftung.

sehr langsam. Erst nach ca. 8 Stunden ist die ursprüngliche Hubhöhe wieder erreicht, aber zunächst mit verlangsamter und unregelmäßiger Schlagfolge.

Nach Vergiftung mit Convallamarin und Strophanthin erholen sich die Herzen etwas rascher.

Figur 3 zeigt die Wirkung von 0,0005 %igem Antiarin. Auch hier kommt die Erholung nur langsam von der Stelle. Vollkommene Restitution der Hubhöhe — zunächst mit Periodenbildung — erst nach 9 Stunden.

Figur 4 zeigt eine Wirkung von 0,02 %igem Helleborein. Die Erholung geht sehr langsam vor sich, obwohl die Vergiftung relativ wenig weit getrieben war. Erst nach 12 bis 15 Stunden ist die alte Hubhöhe wieder erreicht.

Nach diesen Ergebnissen können wir etwa die nachstehende Reihenfolge für die Erholungszeiten aufstellen:

Digitalein, Digipuratum	sofort bis 1 Stunde
Digitalin pulv. germanic.	1/2 bis 3 Stunden
Digitalin amorph.	2 „ 4 „
Convallamarin	2 1/2 „ 6 „
Strophanthin	2 1/2 „ 8 „
Ouabain	4 „ 8 1/2 „
Antiarin	3 „ 9 „
Helleborein	10 „ 15 „

Wir finden also, daß keineswegs die Reversibilität der Herzwirkung in der hier untersuchten Art und Weise mit der kumulativen Wirkung vergleichbar ist, da die Wirkung der stark kumulierenden Digitalispräparate rascher weggewaschen werden kann, als die des weniger kumulierenden Strophanthins. Das könnte wohl darauf beruhen, daß bei den Versuchen, den Grad der kumulativen Wirkung bei den verschiedenen Herzgiften festzustellen, das ganze Tier und nicht das isolierte Herz der Giftwirkung ausgesetzt wurde. Gerade wenn es für die Kumulierung auf die interstitiellen Gewebselemente ankommt, die in der den Ausgangspunkt der Untersuchung bildenden Hypothese angeführt wurden, dann ist das isolierte Froschherz vielleicht ein wenig günstiges Objekt. Aber weitere Versuche an einem größeren Säugetiermaterial waren unter den gegenwärtigen Verhältnissen ausgeschlossen.

Des Ferneren stellten wir fest, daß zwischen Reversibilität der Giftwirkung einerseits und zwischen Diffusibilität und Adsorbierbarkeit der Glykoside andererseits ein Zusammenhang nicht besteht. Wir ziehen daraus den Schluß, daß es auf die physikochemischen Eigenschaften der geprüften Verbindungen im Sinne der anfänglich genannten Theorie nicht ankommt; wahrscheinlich sind also die speziellen chemischen Eigenschaften das Maßgebliche. Aber es wurde ja auch hervorgehoben, daß es von vornherein zweifelhaft war, ob die in den Versuchen verwendeten Stoffe ein brauchbares Material zur Prüfung der Theorie abgeben würden; sie wurden nur als Notbehelf mangels brauchbarerer Stoffe, die gegenwärtig nicht herzustellen waren, probiert.

Wir fassen das Ergebnis der Untersuchung zusammen:

Gemäß einer in der Einleitung angeführten Hypothese wurde bei einer Anzahl digitalisartig wirkender Verbindungen geprüft, ob zwischen Diffusibilität, Adsorbierbarkeit, elektrischer Wanderung und Reversibilität der Wirkung auf das Froschherz ein Zusammenhang besteht. Ein Zusammenhang konnte nicht festgestellt werden.

Neue Untersuchungen zur Chemie des Blutes bei akuter Alkoholintoxikation und bei chronischem Alkoholismus mit besonderer Berücksichtigung der Fette und Lipoide.

Chemische Untersuchungen zur Kenntnis der Entwicklung und des Aufbaues von Lipämien. V.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 1. August 1918.)

Entwicklung, derzeitiger Stand, Methodik.

Angaben, daß Alkoholismus zu Veränderungen im Bestande des Blutes an Fetten und Lipoiden führe, sind im Prinzip recht alt. Specks (älteste) Untersuchungen über die vorliegende Frage gehören den Handbüchern an. Die neueren und auch die jüngsten Arbeiten, welche sich mit Beobachtungen über pathologische Umstimmungen unter den Fetten und Lipoiden des Blutes beschäftigen, sind mit Ausnahme einer spezialistischen, rein tierexperimentell gehaltenen Untersuchung über akute Alkoholwirkungen von Bürger und Schweißheimer nicht auf das Thema alkoholischer Lipämien oder Lipoidämien eingegangen[1]).

Untersuchungen, die sich einseitig mit physiologischen und pathologischen Einflüssen auf die Cholesterinämie beschäftigen, haben kaum spezielle Beiträge geliefert, obschon von

---

[1]) M. Bürger und W. Schweißheimer, Einfluß der Alkoholvergiftung auf das Verhalten des Cholesterins im Blute, Zeitschr. f. ges. exp. Medizin, 5, 136, 1917. B. Frank hat als Erster (1817) von Lipämie (im augenfälligen Sinne) bei Potatoren gesprochen.

verschiedenen Seiten die äußersten Grenzen normaler Verhältnisse (alimentäre Schwankungen usw.) mit einbezogen wurden, die ihrerseits gleichwohl bis heute recht wenig definiert sind. In den Arbeiten der französischen Forscher (Chauffard, Grigaut u. a.), der amerikanischen (Weston, Schmidt, Bloor Denis), der deutschen (Bauer und Skutetzky, Picard, Neumann und Herrmann, Klinkert, Klein und Dinkin, Henes, Weltmann, Stein u. a.) fehlen einschlägige Angaben[1]). Erst mit der ausgreifenderen Untersuchung, die Cholesterin als Teil des gleichfalls durchuntersuchten Lipämiekomplexes darstellt, ist überhaupt die Möglichkeit eines besseren Einblickes gewonnen.

In den Arbeiten von Beumer und Bürger (1913) fanden sich keine einschlägigen Angaben, und in den neuen schönen Forschungen von Bloor treten gleichfalls Bestimmungen über Fette und Lipoide bei Alkoholismus nicht hervor.

Bürger und Schweißheimer traten 1916 in eine Bearbeitung der Aufgabe auf experimentellem Wege ein. Sie lehnen sich hauptsächlich an die chlesterinämischen Erscheinungen an, aus deren Beschreibung heraus sie dann einigen Fragen des Lipämiekomplexes in kurzer Darlegung nähertraten. Ausgehend von der Behauptung (Bauer u. a.), daß erhebliche individuelle Schwankungen (die zur Festlegung der Variationsbreite des physiologischen Vorkommens führen) beim Menschen Tatsache sind, und daß bei einem und demselben Organismus zeitliche (alimentäre) Ausschläge beträchtlicher Art zu beobachten sind, werfen sie die Frage auf, wie weit schon Schädlichkeiten des täglichen Lebens sich in der Ausdrucksform der Cholesterinämie spiegeln. Wir müssen dem entgegenhalten, daß bei leidlich konstanter Lebensweise die morgendlichen Nüchternwerte (mit angemessener Konstanz, für eine Person), einen ziemlich festen Vergleichsmaßstab abgeben. Bürger und Schweißheimer berufen sich auf die Untersuchungen von Reicher über lipämische Umwälzungen bei Narkose. Sie verbinden Alkohol und Cholesterin nach den ihnen möglicherweise unterzulegenden Beziehungen und berichten eingehend über ihre Alkoholbestimmungsmethodik. Im übrigen sind die Untersuchungen nach deren ursprünglichem Plane nicht vollendet und, wie wir nach den Aussagen der Autoren bzw. nach unseren engeren Vorstellungen sehen werden, nicht in allen Teilen befriedigend, obschon sie die erste eingehendere Bearbeitung darstellen.

[1]) Zusammenfassender Bericht mit eigenen (methodischen und klinischen) Untersuchungen über Cholesterinämie in Beziehung zu den übrigen Größen der Blutzusammensetzung bei Joh. Feigl und J. Neumann 1919, daselbst weitere Literaturangaben.

Die Ergebnisse der Untersuchungsreihen von Bürger und Schweißheimer, die vorwiegend auf die Frage der Cholesterinämie gestellt wurden, gipfeln in folgenden Befunden.

Akute Alkoholvergiftung kann beim Hunde eine Vermehrung des Cholesterins im Blute zur Folge haben. Die Vermehrung setzt stets erst ein, wenn die Alkoholmengen im Blute bereits im Rückgange begriffen sind. Manifeste Lipämie wurde selbst bei Gaben bis zu 11,0 ccm per Kilogramm Körper nicht erzielt. Außer dem Cholesterin haben auch die übrigen Blutfette an der Vermehrung Anteil.

Von Einzelheiten des Untersuchungsprogramms seien noch die folgenden genannt. Die höchsten Werte für Alkohol im Blute wurden erzielt 2,06 g $^0/_{00}$) in 6 Stunden nach der Gabe (1); (4,85 g $^0/_{00}$) in 6 Stunden (2); 3,01 g $^0/_{00}$) in $2^1/_2$ Stunden (suspendierter Versuch) (3), (3,2 g $^0/_{00}$) in 8 Stunden (4). Unter Verrechnung der entsprechenden Verluste bei der Blutentziehung größte prozentische Zunahme von Cholesterin von 3 $^0/_0$, von 12,8 $^0/_0$, 12,87 $^0/_0$, (rd.) 15,0 $^0/_0$ usw.

Im einzelnen ergaben sich aus den Voraussetzunggn des Programms bemerkenswerte Unterschiede. Es wurden Tiere verschiedenen Ernährungszustandes beobachtet, gut genährte, mittlere, stark abgemagerte, die nur bei der Alkoholgabe ein wenig fraßen. Der Alkohol wurde etwa als 10 $^0/_0$ige Lösung verabreicht, die Wirkungen waren schwer, bzw. extrem, so daß die Tiere danach starben. Die einmaligen Gaben würden in entsprechender Verrechnung auf den Menschen so gewählt sein, daß ein mittleres Individuum von 65 kg 15 l Bier bzw. 1,3 l Schnaps aufnehmen müßte.

Die Autoren legen Wert auf die Voraussetzung, daß bei den Tieren in dieser Anordnung von einer Alkoholgewöhnung keine Rede war. Wir sind durch Zufall in die Lage gekommen, auch beim Menschen solche extreme Fälle unseren Äußerungen zur Seite stellen zu können (s. u.). Schlecht ernährte Tiere waren der Giftwirkung bedeutend mehr ausgesetzt als gut ernährte. Das betreffende Tier (Tabelle IV) hatte ein Blut mit geringem Trockengehalt; dazu kam ein Übertreten von Wasser aus den Geweben, und das entsprechend erhöhte Cholesterin wird erst durch Verrechnung auf die Trockensubstanz hinsichtlich der tatsächlichen Verrechnung erkannt.

Bei einem sehr kräftigen Tiere mit relativ niederem Blutalkohol (1,74 g $^0/_{00}$) — Ausatmung, Verbrennung — zeigt sich im Plasma eine Erhöhung von 9,4 $^0/_0$ gegen den Ausgangswert in 3 Stunden. Dabei ließ sich zeigen, daß es sich um Zuschüsse freien Cholesterins (aus den Zellen) handelt, das in $7^1/_2$ Stunden um 30 $^0/_0$ gegen den Grundwert gewachsen ist. Körperchen enthielten einmal 1,17 g $^0/_{00}$ Alkohol, während das Plasma parallel 1,59 führte.

Eine Deutung, die auf mechanisches Herauslösen von Cholesterin weisen würde, träfe auf die Tatsache, daß Plasma und Erythrocyten im Extrem einem 0,5 $^0/_0$igem Alkohol entsprächen und auf die Erscheinung, daß die Vermehrung erst nach Abnehmen der Alkoholmengen

sichtbar wird. Es wird eine Zellschädigung angenommen, derart, daß die Zunahme an freiem Cholesterin den Vorgang mit den Körperchen verknüpft. Das Nachhinken gilt als typisch.

Es wird ferner gezeigt, daß die Extraktmengen steigen und zwar unverhältnismäßig stärker als das Cholesterin (Gesamt-); zur Erklärung wird vom Gesamtkomplex das Cholesterin abgesetzt. Während Cholesterin schon sinkt, nehmen die Fette noch zu. Der nicht weiter analysierte „Extraktphosphor" scheint sich nicht zu beteiligen, während Cholesterin um 12 % steigt, tut dies der Gesamtextrakt um rd. 500 %. In diesen Punkten sind die Versuche über allererstes Tasten (mit der Angabe der typischen Richtlinien) nicht herausgekommen (s. u.).

Die Methodik bestand in Trocknung und Extraktion, deren Grenzen gewürdigt werden. „Es fehlt an quantitativen Bestimmungen der übrigen Blutfette." „Grobe Veränderungen der Mengenverhältnisse" lassen sich erkennen.

Mit diesen Hinweisen kann man die Einschränkungen verbinden, die die Autoren selbst ihren Ergebnissen mit auf den Weg geben. Es fehlen ihnen die Lecithinuntersuchungen in ausreichendem Grade, die sichere oder wenigstens zureichende Beschreibung der Glieder (und Beziehungen) des Komplexes für Plasma und Körperchen, sowie ergänzende blutchemische Untersuchungen. Die Methodik ist, mit Ausnahme der des Cholesterins, unzureichend. Die Ergebnisse schränken die Autoren weiter ein, was den lipämischen Komplex angeht, da „Hungerlipämien" vorgelegen hätten. Die klinische Ausdeutung ist sehr vorsichtig zu handhaben. Das Fehlen der manifesten Lipämie wird nicht als verwunderlich angesehen. Die einmalige Einwirkung sei von der chronischen zu scheiden, bei der die Lipämie der Ausdruck schwerer Leber- und Pankreasschäden sei. Doch wird die Möglichkeit höherer Cholesterinämien erörtert.

Eine Kritik der vorliegenden Untersuchungen muß die Bedenken der Autoren noch hinter sich lassen und zahlreiche weitere Argumente anführen. Obenan steht die gesamte Methodik der Gewinnung von Befunden mit anschließender Verrechnung zu bestimmten Beziehungen. Dazu kommen die Begriffe der Glieder des lipämischen Komplexes sowie die vergleichende Untersuchung von Plasma gegenüber den Körperchen, mit Einschluß weiterer chemischer Fragestellungen.

Ferner müssen die relativ gewaltigen Blutentziehungen von großem Einflusse auf die Blutzusammensetzung gewesen sein,

wie es von den Autoren, soweit möglich, noch vorausgesetzt wird. In diesem Sinne brauchen die Versuche nicht „rein“ zu sein. Die Lipämie ist nach den Autoren selbst bestreitbar („Hungerlipämie“); man könnte auch von einer solchen durch Blutung sprechen, die ja weitgehende Umstimmungen in der chemischen Zusammensetzung im Gefolge habe. Mit der anderweitigen Ursache für diese Lipämie taucht die Frage nach dem tatsächlichen Grunde der Cholesterinämie auf. Eine solche kann bei allen Lipämien (Hunger, Blutung) gleichzeitig mit auftreten; die relativ niederen Cholesterinanstiege legen in dieser Hinsicht Vermutungen nahe.

Immerhin sind die programmatischen Voraussetzungen der Autoren sehr überlegt gemacht (Ernährungszustand der Tiere, Mangel der Gewöhnung, Rücksicht auf die Blutkonzentration). Gewisse Bedeutung erlangt die Angabe des Fehlens einer manifesten Lipämie. Alles in allem sind die Untersuchungen weder sehr beweiskräftig, noch die Form derselben, die Abartung des lipämischen Komplexes, gebührend beschrieben, was vorwiegend eine Sache der Methode genannt werden muß. Im Anschlusse an die tierexperimentellen Beobachtungen der Autoren erhebt sich die Frage, wie beim Menschen die akute, schwerste Alkoholvergiftung auf die Zusammensetzung des Blutes zu wirken vermag. Diese Aufgabe können wir mit der Beschreibung eines gewissen Beobachtungsmaterials wenigstens fördern. Innerhalb dieses treffen mit schwersten, akuten, Alkoholvergiftungen solche mehr chronischer und ausgesprochen chronischer Art zusammen, so daß sich die Möglichkeit zu Vergleichsbetrachtungen ergibt. Diese Untersuchungen gehören eigentlich einem Kreise an, der die toxischen Lipämien umzieht und der wiederum Fühlung hat mit den weiteren Abartungen der Norm[1]). Aus dieser haben wir langfristige Unterernährung, kurze Inanition, Wechsel und Sprünge in der Ernährung (Wasser, Fett, Eiweiß), Arbeitsleistung und Ruhe, Tagesschwankungen zu ferneren Mitteilungen gewählt. Einige Fälle mit lipämischen Umstimmungen nach Narkose seien für diese Mitteilungen bereitgestellt.

Unsere einschlägigen Untersuchungen bilden ein Glied aus

[1]) Untersuchungen des Verf., bisher nicht als solche mitgeteilt.

der Serie über Lipämien und sind, wie alle einzelnen, auf die methodischen (und begrifflichen) Grundlagen des Systems von W. R. Bloor gestellt, dessen Teile von Feigl zu sehr umfangreichen Arbeiten benutzt und deren Bedeutung durch vergleichende Methodenkritik näher belegt wurden[1]).

Diese bezog sich auf die Analyse des gesamten und des veresterten Cholesterins in Gegenüberstellung zu den übrigen Verfahren, deren Werte niedriger auszufallen pflegen. In dieser Richtung haben Feigl und Neumann beschreibende Untersuchungen angestellt. Die Bestimmung des Lecithins wurde von Feigl unter dem Gesichtspunkte, daß es ein Glied der P-Verteilung und in ihrem Rahmen abzuhandeln sei in Vergleich zu den älteren Methoden und zur Fällungsmethodik von Greenwald gesetzt. Aus der Parallelbetrachtung resultierten Schlußfolgerungen über das gegensätzliche Verhalten des lipoidgebundenen Phosphors zum säurelöslichen (anorganischen, restlichen) einerseits, zum kolloiden, proteinoiden andererseits, in den Wertausdrücken der Isolierungsverfahren. Die Bedenken der Verrechnung wurden gewürdigt. Für ungeklärte bzw. für zweifelhafte Verhältnisse wurde die Untersuchung auf lipoiden Phosphor durch vergleichende Beobachtung von Fällungsisolierung und Extraktionsmethodik nahegelegt. Die Notwendigkeit der Formulierung zum Lecithin wurde erörtert. Die dem berechneten Lecithin nach dessen vorausgesetzter Molekularformel (welche ihrerseits für die meisten Vorkommnisse als praktisch annehmbar gelten darf) entnommenen Fettsäuren bilden deren erste lipoide Fraktion. Die aus der Esterquote des Gesamtcholesterins zugänglichen Fettsäuren sind deren fernerer Anteil. Beide werden unter Einsatz angenommener Säurenreste überschläglich gewonnen. Vereint werden sie von den Gesamtfettsäuren abgesetzt und

[1]) Joh. Feigl, Über akute gelbe Leberatrophie III (spez. Lipämie I), diese Zeitschr. **86**, 1, 1918; derselbe, Fette und Lipoide im Blute bei Geisteskrankheiten (spez. Lipämie II), diese Zeitschr. **88**, 53, 1918; derselbe, Fette und Lipoide im Blute bei Ikterus und Cholämie (spez. Lipämie III), **90**, 1918, diese Zeitschr. **86**, 48, 1918; derselbe, Fette und Lipoide im Blute bei Diabetes mellitus (spez. Lipämie IV). diese Zeitschr. **90**, 1918; derselbe, Deskriptive Biochemie von Ödemzuständen (I, Blut), diese Zeitschr. **85**, 365, 1918 enthält Angaben über Lecithin, Cholesterin (auch Ester), Fett usw. bei chronischer Unterernährung, bei Avitaminosen usw. Angaben über die Methodik von W. R. Bloor als solche bei Verf., l. c. 1918 (Ödem I, Lecithinämie usw.). Methodologischkritische und allgemein-analytische Untersuchungen über Lecithin Joh. Feigl, Phosphate im Serum VII (P-Verteilung und Lecithin, Vergleichende Untersuchung über Isolierung und Bestimmung des Lecithins) diese Zeitschr. **91**, 1918. Arbeiten von H. Beumer und M. Bürger (1913) siehe bei Joh. Feigl, l. c. 4. Hungerlipämie (Schulz, Daddi, Freudenberg, Bloor) bei Joh. Feigl, l. c. (spez. Lipämie II) 1918, Kumagawa und Kaneda (dgl.), zit. bei Bürger und Schweißheimer.

hinterlassen die Restfettsäuren, deren überwiegender Teil als Neutralfett anzunehmen ist und demnach praktisch vollständig in dieser Form berechnet werden kann. So resultiert das Glycerinfett. Beziehungen bestehen zwischen den Gesamtfettsäuren und dem Lecithin, ferner zwischen dem Lecithin und dem gesamten Cholesterin.

Der Gesamtätherextrakt wird aus den Fettsäuren rechnerisch zu sammengesetzt. Die Vorteile dieses Systems liegen auf der Hand. Wir bringen die Verseifung der Fette und Lipoide, ihrer Zustandsformen und des Gesamtbegriffes, allerdings durch die Voraussetzungen schematisiert, welche aber nur sehr selten tatsächliche Einflüsse auf die zu grunde liegenden wirklichen Verhältnisse ausüben können. Lecithin, Gesamtcholesterin und Neutralfett werden als Teile der Komplexgröße prozentisch berechnet.

Die zugehörigen chemischen Blutuntersuchungen umfassen Dichte von Blut und Plasma, Trockensubstanz, Eiweißgehalt, Körperchenvolumen, Farbstoffe des Plasmas, Zucker, Reststickstoffgebiet, Acetonkörper, die Verhältnisse der Erythrocyten, ihrer Bausteine, spez. des Farbstoffs und die Cytologie.

Die Notwendigkeit dieser übrigen beschreibenden Untersuchungen liegt auf der Hand, schon zur Verrechnung der gefundenen Zahlen gegen die Konzentration. Nach diesen Angaben erklären sich auch die Tabellen.

Mehr als in anderen Unterabschnitten der Lipämiefrage kommt es auf eine pathologisch-anatomische bzw. auf eine klinische Sichtung des Materials an mit möglichster Abgrenzung gegen Komplikationen.

Fahr hat sein zahlreiches Material so ausgewählt, daß er zur Beurteilung der pathologischen Veränderungen sich auf unkomplizierten chronischen Alkoholismus stützen konnte[1]). Nur mit Material dieser Art wird man in der gedachten Richtung weiterkommen.

Bei den Untersuchungen der Pathologen über die Frage des Alkoholismus haben sich namentlich in den letzten Jahren die folgenden Ergebnisse entwickeln und konsolidieren lassen. Im Vordergrund stand die Aufgabe der Feststellung oder Abgrenzung von Beziehungen zwischen chronischem Alkoholismus und Leberzirrhose.

[1]) Th. Fahr, Zur Frage des chronischen Alkoholismus. Verhandlungen der deutschen pathologischen Gesellschaft (13. Tagung), Leipzig 1909 (Sonderabdruck). — Derselbe, Beiträge zur Frage des chronischen Alkoholismus, Virchows Archiv 205, 397, 1911. v. Hansemann, Klopstock, v. Baumgarten, Fischler, Hildebrandt, Saltykow, Ignatowsky, Kretz, Orth, Krukenberg, Chiari, Lubarsch, Gierke, Ernst, Rößle siehe bei Fahr, 1911.

Orth schrieb 1886 in seinem Lehrbuche, daß die eigentliche Säuferleber die Fettleber sei, wie auch umgekehrt nicht jede Cirrhose mit Alkoholismus verknüpft werden darf[1]). Hansemann (und sein Schüler Klopstock) hatten schon betont, daß viele Cirrhotiker Potatoren seien, daß aber andererseits nur relativ sehr wenige Potatoren schließlich Cirrhose bekämen. Die Arbeiten von Fischler lehren, daß bei der Herausbildung der Cirrhose eine Kombination von Toxinen anzunehmen sei. Sie ruhen auf Versuchen über Leberschädigung durch P und Alkohol (gemeinsam), welche degenerativer Natur waren. Klopstock hob hervor, daß Alkohol nicht allein das maßgebende Agens sei. Hildebrandt betont, daß bei der Aufdeckung von Cirrhosen nachdrücklich und gründlich alle sonstigen Noxen (z. B. Infektionskrankheiten, selbst scheinbar unbedeutender Art) zu überprüfen sind. Er geht, wie wir heute (z. T. mit Fischler) sagen können, viel zu weit, wenn er an Urobilinurie als äußeren Indicator denkt. Kretz definiert den Alkohol als disponierendes (auslösendes), nicht als direkt ursächliches Moment der Herausbildung von Cirrhosen. Baumgarten gelangte durch Alkohol nicht zu Cirrhosen, Saltykow dagegen. Die Versuche des letzteren lehnt Fahr, zum Teil auf den alimentär toxische (einseitige Ernährung) Verhältnisse heranziehende Betrachtungen dieses Autors (s. u. Ignatowski) fußend, ab und verweist auf Luxuskonsumtion, Unmäßigkeit usw. bei menschlichen Cirrhotikern, die gleichzeitig Potatoren seien. Fahr knüpft an die genannten Untersuchungen an, zu denen auch das Material von Baumgarten tritt und faßt den Begriff der Toxine als mitbeteiligter evtl. bestimmender Kräfte weiter als Klopstock. Er dehnt seine Untersuchungen auf die Pachymeningitis haemorrhagica aus, besonders auf die Arteriosklerose. Fahr meint, daß selbst in dem Falle von Chiari der Alkohol kaum maßgebend gewesen sei[2]); er schließt sich den Angaben von Ignatowski und von Lubarsch an, welche die Atheromatose mit Stoffwechselstörungen (Eiweiß) in Zusammenhang setzen. Seine Versuche zeigten keine Sklerose.

Die Tierversuche ergeben als wesentlichste Erscheinung die Fettleber[3]). An 309 Potatoren zeigte sich dieselbe in wechselnder Stärke 298 mal. In der Regel ist die Verfettung nicht mehr physiologisch, wenn auch zuzeiten ein schwer abzugrenzender Umfang des Depotfettes vorliegt. Die Intensität wechselt also außerordentlich.

Bei der Säuferleber kommen Infiltration und Degeneration nebeneinander vor[4]). Es erscheinen neben zugrunde gegangenen Zellen Fettmassen, das Parenchym kann sich als Fettgewebe darbieten. Fahr ver-

---

[1]) Th. Fahr, l. c. Seite 398, Fußnote eingesetzt von J. Orth. Fahr betont ebenda (402) nach Orth: „Die meisten Säufer haben eine Fettleber, keine cirrhotische“.

[2]) l. c. 400. 13 jähriger Knabe, unterernährt, mit viel Bier.

[3]) z. T. am Jgel nach dem Vorgange von Krukenberg.

[4]) Definiert nach dem Zustande des Fettes (Funktionstätigkeit).

meidet die schwierige Scheidung der beiden Formen und redet von Verfettung schlechthin. Sie kann in Häufung des Depotfettes und in ausgedehntem Untergang bestehen. Intensität von Alkoholismus und Leberstörung stehen nicht in direktem Verhältnis. Für die Verfettung kommen andere Einflüsse mit zur Auswirkung. Fahr denkt an Unterernährung und „Alkoholkachexie". Ein Parallelismus zwischen dem Auftreten entzündlicher Herdchen und dem Untergang von Leberparenchym besteht nicht.

Das Kardinalsymptom des reinen chronischen Alkoholismus ist die Verfettung, die von entzündlichen Vorgängen begleitet sein kann (nicht muß).

Fahrs Beobachtungen griffen weiter aus auf das Fettherz. Der Komplex der Erscheinungen lehrt an Gesamtstörung des Fetthaushaltes denken, soweit sich sichtbar in verschiedenen Anschauungsformen und Erkenntnismitteln enthüllen läßt. Chemische Untersuchungen über die Verteilung und das Vorkommen von Fetten und Lipoiden in Blut und Plasma, sowie über die äußeren Erscheinungen und Wandlungen des lipämischen Bildes fehlen.

Bischoff berichtete (1912) über spezielle Untersuchungen zu der vorliegenden Frage, die unter Leitung von K. Reicher in der Klinik Kraus zu Berlin angestellt wurden. In dieser Arbeit — ebenfalls experimenteller Art — treten erstmalig breitere chemische Organuntersuchungen mit hervor[1]).

Verfasser ging von der Meinung aus, daß die älteren experimentellen Arbeiten zur Frage des Alkoholismus einer Weiterbildung bedürften. Er wägt die älteren Stimmen

---

[1]) M. Bischoff, Neue Beiträge zur experimentellen Alkoholforschung mit besonderer Berücksichtigung der Herz- und Leberveränderungen. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. 11, 444, 1912. — Ältere Alkoholforschung, Bauer und Bollinger, Bickel, Denig, Dujardin-Baumetz (Audigé), Kulbin, Overton, de Rechter, Mertens, Jngillieri, Burzio, Weichselbaum, Eisenmenger, Parkes, Macki, Botcharow, Dehio, Rosenfeld, Klemperer, A. Dietrich, Vogler, Landsteiner und Mucha, Loehlein, Rubow, Shibata und Eudo, Kraus, Ohta, Sieber, Nerking u. a. s. dort. Versuchsanordnung S. 454; Chemische Untersuchungen S. 460 ff. — Ferner: M. Bönniger, Chem. Blutuntersuchung. Zeitschr. f. klin. Med. 11, 1, 1912. Über Fettmaskierung auch Hoppe-Seyler, v. Liebermann, Nerking, Mansfeld siehe bei A. Magnus-Levy, den betr. Abschnitt in Oppenheimer, Handb. d. Biochemie des Menschen und der Tiere, 4, 1, 446 ff.

(Richter, Masslow u. a.), die sich für eine Cirrhose entschieden hatten, gegen die neueren ab, die durch von Baumgarten und Fahr auf die eindeutige Fettleber hingewiesen haben. Kretz nahm einen vermittelnden Standpunkt ein, der durch Weichselbaums Beobachtungen über das gelegentliche Zusammenfallen von Fettleber mit Bindegewebswucherung erweitert wird. Die zur Untersuchung kommenden Stauungslebern werden als alkoholspezifisch abgezweigt. Die Entscheidung nach dem Ursprunge des bereits makroskopisch sichtbaren Fettes konnte nicht gefällt werden, da eine Vermittelung sich als alleiniger Ausweg darbot. In der der Zentralvene nächsten Partie des Acinus lag meistens, und dann am deutlichsten, der Sitz der Verfettung. Das ist aber zugleich der Ort langsamster Blutzirkulation. Nach Overton hängt die Plasmazerstörung vom osmotischen Drucke ab. Am Herzen fanden sich Myokarditis, Shock (Dehio), Verfettung. Erstere ist als Endstadium bei Trinkern, letztere als einleitende Erscheinung beschrieben. Die fettig degenerativen Erscheinungen stehen im Vordergrunde, wobei auch die auffallende Lokalisation von Interesse sein muß.

In der Frage der Nierenverfettung wird besonders hervorgehoben, daß für die zu völliger Unsichtbarmachung führende Fettmaskierung eine besondere Rolle spiele. Kraus hatte gefunden, daß gesunde und kranke Nieren bis zu 23 % Fett nicht immer erkennen lassen, und Rosenfeld, Klemperer, Dietrich betonten, daß wechselnde Anteile des Gesamtfettes so weit maskiert seien, daß die mikroskopische Untersuchung zu keinem maßgebendem Urteile führe. Orgler, Landsteiner, Loehlein fanden das Gegenteil, und Shibata hat (mit Endo) gefunden, daß chemische und mikroskopische Methoden immerhin häufig parallele Schlüsse zu ziehen gestatten. Wir meinen, daß gerade hier vorwiegende chemische Aufgaben liegen, die uns später beschäftigen werden. Die Art und Form, das Aussehen und Wesen der Fettmaskierung im Blute wird uns (nach unseren Fällen) noch in Anspruch nehmen.

Bischoffs organchemische Untersuchungen ergaben einen geringen Fettzuwachs (Gesamt-) des Herzens von 11 % (Kontrolle) auf 12 % (Versuch) berechnet auf Trockensubstanz. Daneben ging eine „eklatante und sowohl absolute wie prozen-

tische Verminderung der Lipoide einher“. Lecithin sank im großen bereits um fast die Hälfte ab.

Sieber hatte rd. 37,0 % Verlust gesehen. Ivannovics und Pick sowie Waldvogel hatten Beobachtungen gemacht, die im Prinzip dasselbe ergaben, wobei das Organ absolut, besonders aber relativ an Fett zunahm und die Lipoide zurückfielen. Im Gesamtfett sank das Lecithin um rd. 26 %. Die Normalzahlen passen sich gut denen von Nerking (Kaninchen), immerhin ausreichend denen bei Hunden (Sieber) an. Rubows Zahlen lagen im Prinzip höher. Cholesterin soll höchstens leichter vermindert gewesen sein. Gleichzeitig wächst also der Fettgehalt an und kann geradezu makroskopisch in die Erscheinung treten.

Wollten wir eine kurze Kritik anschließen, so kann diese mit Recht auf die leider noch unsicheren methodischen Verhältnisse hinweisen, unter denen zweifellos der lipoidische Phosphor am meisten zu leiden hat. In dieser Richtung ist die Abweichung gegen Rubow (exakte Laboratoriumsarbeit) nicht ohne Interesse. Blutchemische Arbeiten fehlen auch hier.

Die aufgeführten Untersuchungen anatomisch-mikroskopischer und makrochemisch-organchemischer Art weisen unter Betonung der großen Notwendigkeit solcher Erhebungen zwar im groben den Erkenntniswegen und mit ihnen der Vorstellung von dem Wesen der Verteilung und Umformung im Blute (und Serum) die Richtung. Solche Untersuchungen fehlen indes einstweilen nach unserer Kenntnis durchaus. Eine Ausnahme machen die nach mehr als einer Richtung unbefriedigenden Beobachtungen von Bürger und Schweißheimer. Für das einstweilige Fehlen kann man nach diesen Autoren die methodische Schwierigkeit und Unsicherheit der älteren Verfahren ansehen. Es war also geboten und reizvoll, mit den neuen (z. T. eigens für die Anwendung im Gebiet des Komplexes durchgearbeiteten) Methoden mikrochemischer Art, an die Probleme heranzutreten.

Die von Bischoff angekündigte Übertragung der Forschung vom Tierexperiment auf den Menschen fehlt bisher — vgl. auch in diesem Sinne die neue Arbeit von Bürger — nach meiner Kenntnis.

Aus den Kenntnissen über fettchemische Umstimmungen

in den Organen wird man auf die Frage verwiesen, inwieweit solche (wenigstens in kurzem, energischem Verlaufe) mit Umstimmungen im Serum verknüpft zu sein vermögen. Daß die Fettwanderung, der Transport und die Mobilisation anfangs und schließlich beim Untergange der betreffenden Bezirke im Blute zur Spiegelung kommen können, ist zum mindesten nicht unwahrscheinlich. So ist denn die Frage nach den Beziehungen der Fettniere zum Lipoidkomplex des Blutes von Fahr mehrfach gestellt worden.

Ferner aber ist der Möglichkeit an sich Raum geboten, die qualitativen Unterschiede in den Fett-Lipoidumwälzungen der Organe, als Phasen der zeitlichen Abwicklung, ins Blut (Plasma) projiziert zu sehen.

Die Aufgabe der Beschreibung des chemischen Bestandes (an Fetten und Lipoiden) der Erythrocyten fußt unabhängig von obigen Erörterungen auf eigenem Untergrunde.

Beobachtungsmaterial und Befunde.

Aus unserem eigenen Beobachtungsmateriale stellen wir die als akut zu bezeichnenden Fälle voran. Sie sind gekennzeichnet dadurch, daß der Alkoholmißbrauch einmalig, isoliert oder wenigstens sehr selten (in langen Fristen) vor sich ging. Die Gaben waren in jedem Falle sehr hoch, ja extrem und die toxischen Folgen solche, daß der Patient in unmittelbarster, schwerster Lebensgefahr schwebte. An zweiter Stelle kommen die Untersuchungen an chronischen Säufern. Ergänzend werden später noch einzelne Tierexperimente mitgeteilt.

Schwere akute Alkoholintoxikation.

1, Aca I. E. H. Wohlhabende Schlächterfrau, 25 Jahre, vollständig bewußtlos (als Gasvergiftung) eingeliefert, völlig schlaffe Muskulatur. Röchelnd-schnarchende Atmung. Herz leichte Töne. Pupillen reagieren kaum, Konjunktivalreflex ∅, sonstige Reflexe Spur oder (reizlos) ∅. Atemluft spirituös-aromatisch. Nach 2 Stunden leichteste Besserung der Reflexe, langsamer Rückgang des Rasselns und Giemens. Nach ca. 20 Stunden tritt Cornealreflex ein. Sensorium wie früher, Muskulatur noch sehr schlaff. Nadelstiche wirken nach 24 Std.

Tabelle I.

Befunde der chemischen Untersuchung des Blutes von Fall I, Aca I, Fette und Lipoide im Plasma und in den Erythrocyten bei schwerer akuter Alkoholintoxikation I mit Einschluß weiterer Nebengaben. **Lecithin; Cholesterin (frei und Ester); Fettsäuren als Neutralfett; Gesamtfettsäuren; Gesamtätherextrakt (Plasma). Beziehungen zwischen den Komponenten des lipämischen Komplexes. Analysen nach Methoden und Rechnungen von W. R. Bloor Zahlen in mg für 100 ccm Substanz.**

Termin	Allgem. Untersuchung von Blutkörperchen u. Plasma	Elemente	Gesamt-extrakt	Gesamt-fettsäure	Lecithin	Neutral-fett	Cholesterin		Ges.-Fettsäuren zu Lecithin	Lecithin zu Cholesterin	In % vom Ges.-Extrakt		
							Gesamt	Ester in %			Lecithin	Cholesterin	Neutralfett
a)	Eryth.-Vol. 49 %. Konzentration u. Dichte von Blut und Plasma o. B. Albumin 60 % des Ges.-Eiweißes. Hb. 96 %. Eryth. 3,9 Mill. Leukoc. 24800. R.-N 48,0 mg. $\overset{+}{U}$rN 29,0 mg. Wa. Ø BZ. 0,14 %. Ht. eben +, Bil. spät +, O_2Hb. HA Ø. Alc. Plasma 0,5 %. Alc. Eryth. 0,62 %.	Erythrocyt.	—	260,0	200,0	100,0	230,0	—	1,3	0,9	—	—	—
		Plasma	1150,0	785,0	580,0	180,0	270,0	75,0	1,4	2,1	49,0	23,0	16,0
b)	Eryth.-Vol. 51 %. Konzentration, Dichte usw. o. B. Alb. 55 % des Ges.-Eiweißes. Alkalescenz mäßig herabgesetzt. R.-N 48,0 mg. $\overset{+}{U}$rN 20,0 mg usw. BZ. 0,17 %. Ht. +, Bil. +, Diazo spät, Urob. Spur, Alkohol, Plasma 0,18.	Erythrocyt.	—	400,0	350,0	150,0	180,0	—	1,14	1,94	—	—	—
		Plasma	2700,0	1300,0	320,0	590,0	1220,0	58,0	4,2	0,25	12,0	47,0	21,5
c)	Wie oben. R.-N usw. noch deutlich erhöht BZ. 0,12 %. Ht. Ø, Bil. +, Diazo zweiphasig, Urob. Spur, Alkohol, Plasma 0,02.	Erythrocyt.	—	300,0	460,0	Spur	220,0	—	0,65	2,1	—	—	—
		Plasma	3250,0	2100,0	390,0	1800,0	920,0	20,0	5,4	0,42	12,0	25,4	55,0
d)	Alles o. B. 8000 Leukoc. Hb. Ø, Bil. Ø	Erythrocyt.	—	340,0	440,0	30,0	180,0	60,0	0,77	2,45	—	—	—
		Plasma	1100,0	5557,0	330,0	230,0	400,0	45,0	1,7	0,82	30,0	31,0	28,0

Nach ca. 48 Stdn. allmähliche Orientierung. Angabe: durch Genuß eines großen Wasserglases voll „echtem Steinhäger“ bewußtlos geworden zu sein. Brechreiz, Atmung schnappend. Puls sehr klein, Herztöne o. B. Träger Cornealreflex. Leicht blutiger Auswurf. Allmähliche Besserung.

Blutentnahme war ca. 6 Stunden nach Intoxikation (a), ca. 24 Stdn. und ca. 48 Stdn. nachher (b), 100 Stdn. später (d). Liquor von 6 Stunden nach Aufnahme (c). Nach Anamnese immer gesund gewesen; keine schweren Infektionskrankheiten; Potus negiert (Wa. Ø); normale Geburten; Unterleibsleiden (1917); gute Ernährung. Vor der Intoxikation gut gegessen; allgemein guter Ernährungs- und Kraftzustand. Mäßig oder ganz selten alkoholische Getränke. Der Verlauf charakterisiert sich als schwerste Alkoholintoxikation mit ca. 200,0 ccm 90 %igem Alkohol (berechnet). Nachdem wieder hergestellt. Urin ist o. B., dann (48 Stdn., 64 Stdn.) Spur Zucker, ca. 0,18 % Glukose (!), einzelne Leukocyten und Erythrocyten.

2, Aca II. N. O. Mädchen aus guten Verhältnissen. 22 Jahre. Bisher gesund. Lues negiert (Wa. Ø). Theatralischer Suicidversuch mit nahezu ½ Fl. Kognak. Schwerste Alkoholintoxikation mit unmittelbarer Lebensgefahr. Guter Ernährungs- und Kräftezustand. Blutentnahme ca. 4 Std. nachher (auch Liquor), ca. 20 Std. nachher (bereits einige Ernährung) und nach 12 Tagen als geheilt. Urin erst o. B., später fast 0,3 % Zucker und Eiweiß, Bil., dazu Leukocyten, Cylinder, wenige Erythrocyten (s. Tab. II).

3, Aca III. R. H. Lab.-Wärter; nüchterner, mäßiger Mensch guten Ernährungs- und Kräftezustandes von 53 Jahren. Organe o. B. Anamnese ohne Bes. Pflegt in Abständen von ca. 1 Jahre mehr oder minder (neuerlich) zu trinken. Zuletzt in einer dreitägigen Frist fortlaufend gewaltige Mengen minderen Kartoffelschnaps und 96 %igen Alkohol, in nüchternen Momenten gegessen. Ziemlich schwere akute Erscheinungen. Untersuchung (a) ca. 30 Std. nach Beginn der Periode bei dauernd schwerer Intoxikation. Urin 0,15 % Zucker, Eiweiß Spur, leichter Sedimentbefund. Organe usw. o. B. Wa. Ø. Kontrolle nach ca. 16 Tagen (b) (s. Tab. III).

4, Aca IV. N. O. 18 jähriger, beschränkter Fürsorgezögling von sehr gutem Ernährungszustande, klin. o. B. Schwerer

Tabelle II.

Befunde der chemischen Untersuchung des Blutes von Fall 2, Aca II. Fette und Lipoide im Plasma und in den Erythrocyten bei schwerer akuter Alkoholintoxikation II mit Nebenangaben.

Lecithin, Cholesterin (frei, Ester), Neutralfett, Gesamtfettsäure, Gesamtextrakt (Plasma). Beziehungen der Komponenten. Analysen und Rechnungen nach W. R. Bloor. Zahlen in mg für 100 ccm Substanz.

Termin	Allgemeine Untersuchungen der Blutflüssigkeit (Erythrocyten und Plasma)	Elemente	Gesamtextrakt	Gesamtfettsäuren	Lecithin	Neutralfett	Cholesterin Gesamt	Cholesterin Ester in %	Ges.-Fettsäuren / Lecithin	Lecithin / Cholesterin	In % vom Ges.-Extrakt: Lecithin	In % vom Ges.-Extrakt: Cholesterin	In % vom Ges.-Extrakt: Neutralfett
a)	Konzentration, Erythroc.-Vol., Albumin u. Globulin o. B., Ht. schwach +, Bil. + (Diazospät), Urob. Spur	Erythrocyt.	—	190,0	240,0	60,0	240,0	—	0,8	1,0	—	—	—
	R.-N 54,0 mg, $\overset{+}{\text{Ur}}$N 24,0 mg, AminoN 34,0 mg bzw. 30,0 mg, BZ. 1,14%. Alkalescenz mäßig herabgesetzt. Alkohol, Plasma 0,4%.	Plasma	1060,0	695,0	480,0	135,0	210,0	75,0	2,2	2,2	46,0	20,0	13,0
b)	Alles o. B. Bil. schwach +, Diazo spät, Hb. ∅, BZ. 0,12%.	Erythrocyt.	—	340,0	380,0	70,0	190,0	—	1,14	1,94	—	—	—
	R.-N-Gebiet o. B. $\overset{+}{\text{Ur}}$ 4,1 mg	Plasma	3500,0	1130,0	320,0	850,0	800,0	25,0	3,5	0,4	14,5	36,5	38,5
c)	Alles o. B., noch leichteste (chemische) Lipämie	Erythrocyt.	—	320,0	480,0	0,0	240,0	—	0,67	2,0	—	—	—
		Plasma	1090,0	669,0	320,0	290,0	310,0	70,0	2,2	1,0	30,0	28,0	30,0

Tabelle III.

Befunde der chemischen Untersuchung des Blutes von Fall 3, Aca III. Fette und Lipoide im Plasma und in den Erythrocyten bei schwerer akuter Alkoholintoxikation III mit Einschluß weiterer Nebenangaben. Lecithin; Cholesterin (frei und Ester); Fettsäuren als Neutralfett; Gesamtfettsäuren; Gesamtextrakt (Plasma); Beziehungen der Komponenten des lipämischen Komplexes. Analysen nach Methoden und Rechnungen von W. R. Bloor. Zahlen in mg für 100 ccm Substanz.

Termin	Allgemeine Untersuchungen der Blutflüssigkeiten (Erythrocyten und Plasma)	Elemente	Gesamtextrakt	Gesamt-fettsäuren	Lecithin	Neutralfett	Cholesterin		Ges.-Fettsäuren / Lecithin	Lecithin / Cholesterin	In % vom Ges.-Extrakt		
							Gesamt	Ester in %			Lecithin	Cholesterin	Neutralfett
a)	Blut riecht stark nach Alkohol und Riechstoffen des Schnapses, 0,72 %. Körper-Vol. 44. Konzentration, Dichte, Albumin u. Globulin o. B.	Erythrocyt.	—	390,0	440,0	80,0	230,0	—	0,9	1,9	—	—	—
	Im Plasma (Serum) keine fremden Farbstoffe (Ht. usw.), Bil. Spur, Hb. 89 %, Cytolog. o. B., 18 000 Leukoc., R.-N. BZ. 0,14 %.	Plasma	3200,0	1300,0	410,0	860,0	520,0	50,0	3,2	0,8	21,0	26,0	43,0
b)	Alles o.B.	Erythrocyt.	—	450,0	440,0	140,0	200,0	—	1,2	2,3	—	—	—
		Plasma	820,0	430,0	260,0	150,0	310,0	66,0	1,66	0,84	31,5	38,0	19,0

Tabelle IV.

Befunde der chemischen Untersuchung des Blutes in den Fällen 4, Aca IV; 5, Aca V; 6, Aca VI; 7, Aca VII. Fette und Lipoide im Plasma bei schwerer akuter Alkoholintoxikation IV mit Einschluß von Nebengaben. Lecithin; Cholesterin (frei, Ester); Neutralfett; Gesamtfettsäuren; Gesamtextrakt. Beziehungen zwischen den Komponenten des lipämischen Komplexes. Analysen nach Methoden und Rechnungen von W. R. Bloor. Zahlen in mg für 100 ccm Substanz.

Termin	Allgemeine Untersuchungen der Blutflüssigkeit	Gesamtextrakt	Gesamt-fettsäuren	Lecithin	Neutralfett	Cholesterin		Ges.-Fettsäuren / Cholesterin	Lecithin / Cholesterin	In % vom Ges.-Extrakt		
						Gesamt	Ester in %			Lecithin	Cholesterin	Neutralfett
4 a)	Ht. +, Bil. +, Diazo spät. Dichte o.B. 79% Hb. 15600 Leuk. B.Z 0,17. R.-N 62,0 mg, $\overset{+}{\text{U}}$rN 28,0 mg. Alk. 0,48%.	1450,0	655,0	500,0	275,0	640,0	12,0	1,3	0,7	39,0	49,0	19,0
4b)	Alles nahezu o. B.	770,0	440,0	220,0	760,0	260,0	66,0	2,0	0,85	29,0	33,0	21,0
5	Ht. Spur. Bil. Spur. Dichte, Konzentration, Hämatologie o. B. BZ. 0,14%. R.-N 40,0mg. $\overset{+}{\text{U}}$rN 20,0 mg. Alk. 0,5%.	1180,0	785,0	580,0	180,0	270,0	75,0	1,4	2,1	49,0	23,0	15,5
6	Ht. +, Bil. + spät. Dichte 102%. 66% Hb., 2,8 Mill. Erythroc. 24000 Leuk. R.-N 72,0 mg, $\overset{+}{\text{U}}$rN 4,2 mg. BZ. 0,18%.	1360,0	615,0	425,0	245,0	610,0	20,0	0,5	1,33	30,0	45,0	18,0
7 a)	Befunde ähnlich vorigen. Urobilin +, Ht. +. BZ. 0,15% R.-N 62,0 mg. $\overset{+}{\text{U}}$rN 30,0 mg. $\overset{+}{\text{U}}$r 5,0 mg. NH_3NO 43,0 mg. Acetonkörper leicht erhöht. 78% Hb.	1550,0	875,0	585,0	240,0	410,0	75,0	1,5	1,4	30,0	21,0	12,0
7b)	Ähnlich wie 7. Leukocytose.	8400,0	6500,0	620,0	5900,0	1410,0	33,0	10,5	0,44	7,3	16,8	71,0
7 c)	Gebessert. Ht. Ø. Bil. ++ zweiphasig.	7200,0	6300,0	405,0	6350,0	675,0	4,0	15,5	0,6	5,6	9,0	91,1
7d)	Nahezu alles o. B.	1130,0	680,0	320,0	190,0	310,0	70,0	2,2	1,0	29,5	28,0	30,0

Schnapsrausch und ernste Erscheinungen. Nach 10 Std. eingeliefert, untersucht (a). Geheilt nach 21 Tagen, untersucht (b). Zu a): Urin 0,12 $^0/_0$ Zucker, E leicht +, Sediment.

5, Aca V. M. Z. 25 jähriger Matrose, klin. o. B., mäßiger Ernährungszustand. Aus Furcht vor Strafe Schnapsrausch; tiefes Koma. Untersucht nach 8 Std.; leichte Glucosurie, Albumin schwach +, Acetonkörper leicht +, Sedimentbefund.

6, Aca VI. P. X. 40 jähriger Landsturmmann, klin. o. B., ziemlich reduzierter Zustand. Aus Kummer schwerster Schnapsgenuß. Untersucht nach 14 Std. Spuren Zucker, Albumin wenig, Aceton klin. +, Urobilinogen +, Sedimentbefund.

7, Aca VII, J. K. 52 jährige, gesunde, sehr wohlgenährte Frau niederen Standes. Im Anfall von plötzlicher Geistesstörung schwerster Schnapsgenuß. Untersucht nach 7 Std., 18 Std., 36 Stunden; nach Heilung, ca. 3 Wochen. Urologie wie 4, 5, 6.

Beurteilung der Ergebnisse an Fällen mit schwerer akuter Alkoholintoxikation.

Die vorstehend aufgeführten Fälle sind solche, bei denen die Anamnese auf allgemein guten bis befriedigenden Gesundheitszustand hinwies. Klinische Bedenken, die Personen (früher und derzeit) als mit Ursachen in Richtung auf Leberstörungen usw. behaftet zu beschreiben, lagen in keinem Falle vor. Für die meisten trifft zu, daß der Gesundheitszustand während längerer Frist ausreichend bekannt war. Ebenso ist kaum eine Person mit irgendeiner Form von Alkoholmißbrauch, ja selbst mit einer über ein geringes Maß hinausgehenden Konsumtion, in Zusammenhang zu bringen (Fall 3). Der Alkoholmißbrauch erfolgte ausnahmslos in depressiven oder erregten Zuständen, wie die kurzen Angaben schildern. Immer handelt es sich um Schnäpse und um Gaben, die den Betroffenen eben hart an der unmittelbaren Lebensgefahr vorbeiführten. Diese wurden, was u. E. gleichfalls wichtig und zugleich erweislich ist, in einem Gusse genossen, worauf alsbald die unter 1, Aca I beschriebenen schweren Symptome, die genereller Natur sein dürften, einsetzten. Ausnahme: 3, Aca III; R. H.

Die chemische Untersuchung des Materials, das mir zum großen Teile freundlicherweise von auswärts zugeschickt wurde, konnte zeitlich naturgemäß nicht einheitlich disponiert werden. Immerhin deckt die Gesamtübersicht unserer Untersuchungen Zeitfristen in gewisser Abstufung, die einen bescheidenen Einblick in die Herausbildung, Abwicklung und Umformung der lipämischen Störungen gestatten.

Es wäre unsinnig, solche Untersuchungen ohne die vorgängig nötigen ergänzenden und sichernden allgemeinen Erhebungen über Blut, Plasma und Urin anzustellen. Dichte des Serums, die Konzentrationsverhältnisse, das Körperchenvolumen, die Eiweißwerte und ihre Verteilung auf Albumin und Globulin, äußere Beschaffenheit blieben sich gleich. In der Hämatologie zeigten sich mehrfach leichtere bis mäßige Leukocytosen. Die Spektroskopie ergab nicht selten positive Hämatinreaktion. Zu dieser traten Bilirubinbefunde mäßigen Grades, zumeist allerdings „hämolytischer" Natur (verzögerter Ablauf der Reaktion). Urobilinämie spielte u. E. keine Rolle. Die Alkalescenz war mehrfach erheblich gesenkt.

Die „Blutzucker"werte (auch die für Plasmazucker) waren anfänglich zumeist nicht unbeträchtlich erhöht, und leichte Glucosurien waren durch abgrenzende Methoden zweifelsfrei erweislich. Das Gebiet des Reststickstoffs zeigte sich ausnahmslos verändert. Die Abweichungen schwankten mit der Natur der Fälle und der Zeit. Der Gesamt-R.-N war erhöht, der Harnstoff-N, der gesamte Aminosäuren-N sowie dessen Glieder, in einzelnen Fällen sogar Purin. Leichtere Nierenschädigungen zeigten die mikroskopischen Sedimentbefunde an. Soweit von den Beobachtungen im akuten (hohen) Stadium; der Verlauf wird uns später beschäftigen.

Die zur Verfügung gestellten Blutproben verrieten (im frischen Zustande) zumeist in geradezu penetranter Weise den Alkoholgehalt und meist noch mehr die Anwesenheit der Schnäpse durch die spezifischen Riechstoffe. Die Befunde liegen, was beiläufig erwähnt sei, in einer Größenordnung mit denen von Bürger und Schweißheimer, erheben sich darüber teilweise hinaus. Ob hierin speziell pathologische Vorbedingungen irgendwelcher Art, spezielle Wirkungen der Alkoholica liegen oder endlich gewisse methodische Einschläge

sich bemerkbar machen, ist bisher nicht scharf entschieden. Wir neigen bei aller Anerkennung der zweiten Möglichkeit, für deren nähere Abgrenzung und Beschreibung exakte methodologische Arbeiten im Gange sind, doch zu gut 75 % der ersteren Verknüpfung zu. Im Liquor (Fall 1, 4, 7) waren excessive Befunde für Alkohol erhoben.

Die Untersuchungen über den lipämischen Komplex förderten folgende Ergebnisse im akuten Zustande und im weiteren Ablauf zutage.

An den Erythrocyten zeigte sich wenig. Nimmt man nach den neuen Angaben von Feigl (1918), die auf der Methodik Bloors fußen, den Bereich für Lecithin mit 500,0 mg bis fast 350,0 mg (vollwertige Erythrocyten Gesunder) an, so ist nach den Fällen 1, Aca I (Beobachtung a, 200,0 mg für 100 ccm) und 2, Aca II (Beobachtung a, 240,0 mg Lecithin für 100 ccm) ein nicht ganz unbeträchtlicher Rückgang an Lecithin annehmbar, der indes in den nächsten Beobachtungen alsbald ausgeglichen erscheint. Fall 3 (Aca III) gab diesen Befund nicht (Beobachtung a, 440,0 mg Lecithin). Er hat ohne Zweifel durch den Verlauf der Intoxikation (s. dort) an dieser Stelle einen anderen (späteren) Standpunkt bereits erreicht. Es ist nicht angängig, von dem Cholesteringehalt (auch Ester) und Fettgehalt und vom Eiweißgehalt usw. im Sinne abartender Befunde zu sprechen. Die Erythrocyten reagieren also nur im allerersten Stadium mit einem gewissen Verluste an Lecithin und nehmen an den sonstigen Umstimmungen im Verlaufe keinen Anteil. Über den Rest-P sehen wir noch Näheres. Vielleicht darf man diese Erscheinung mit der einstweilen wohl genügend belegten Mobilisation (eventuell Ausschlag) von Lecithin aus Organen (Bischoff, s. o.) auf eine Stufe stellen; dagegen spräche nur die schnelle Rückbildung, über die wir von den Organen nichts wissen.

Anders liegt die Sache im Plasma. In ihm spielen sich in längerer Frist die Erscheinungen lipämischer Umwälzungen ab. Das Plasma führt Hämatin (wenig, nicht immer), Bilirubin (vorwiegend „hämolytisches") und war in den meisten Fällen durchaus klar. Ausnahmen bilden Fall 4 (trübe), Fall 6 (leicht opak und später trübe). Da die Gallenstoffe die Höhe nicht erreichen, die cholämische Lipämien maskieren, und da das

reaktiv charakterisierte Bilirubin[1]) dem hämolytischen Typ angehört, muß dieser Ursachenkomplex teilweise oder ganz ein anderer sein. Wir werden auf die erstmals von Hoppe-Seyler, später von Liebermann (Lecithalbumin), dann von Mansfeld erörterte Maskierung durch sekundäre Bindung hingewiesen. Der Äußerungen von Rosenfeld (irrtümlich), von Connstein und Michaelis (falsche Deutung), der Versuche von Nerking (chemische Hydrolyse ohne Ergebnis) darf nebenher gedacht werden. Auch Bürger und Schweißheimer betonen diese auffallende Maskierung des lipämischen Fettzuwachses.

Fassen wir, soweit es geht, die Einzelbeobachtungen über die Umstimmung des lipämischen im Plasma zusammen, so läßt sich ein Frühstadium herausschälen. In Fall I (Aca I) fällt der erste Termin (a) auf die (ca.) 6. Stunde nach der Intoxikation; in Fall 2 (Aca II) desgleichen und entsprechend auf die 4. Stunde; im Fall 3 (Aca III) auf die 30. Stunde nach Beginn des dauernden Trinkens (s. u.); im Fall 4 (Aca IV) auf die 10. Stunde: im Fall 5 (Aca V) auf die 8. Stunde; im Fall 6 (Aca VI) auf die 14. Stunde; im Fall 7 (Aca VII) auf die 7. Stunde. Im Fall 1 rückt als erstes Glied des Komplexes entschieden das „Lecithin" auf (580,0 mg gegen 180,0 mg Neutralfett und 270,0 mg Cholesterin). Im Fall 2 liegt die Sache ähnlich (480,0 mg gegen 135,0 mg und 210,0 mg bzw.). Fall 4 zeigt dagegen zwar hohes Lecithin (500,0 mg gegen mäßiges Neutralfett, 275,0 mg); doch ist schon Cholesterin auf 640,0 mg aufgerückt. Fall 5 zeigt das Bild der ersten Fälle (580,0 mg Lecithin gegen 180,0 mg Neutralfett und 270,0 mg Cholesterin). Fall 6 zeigt Lecithin (425,0 mg) und Cholesterin (610,0 mg) erhöht. Fall 7 endlich hohes Lecithin und mäßiges Neutralfett mit mäßig hohem Cholesterin (bzw. 585,0 mg und 240,0 mg und 410,0 mg). Fall 3 steht ganz für sich (s. u.).

Läßt man nun getrost die Voraussetzungen für das Einsetzen der Lipämie nach Zeit und Grad wie nach Charakteristik gelten, so wird sich trotzdem das Wesen der Erscheinungen herausschälen lassen. Diese Voraussetzungen sind in unseren

---

[1]) In dieser Hinsicht sei auf Befunde des Verf. über Lipämie usw. der perniziösen Anämie u. a. verwiesen (s. später).

Fällen variiert. Allgemeiner Körperzustand (bes. Fett), derzeitiger Ernährungszustand und Intensität der Vergiftung schwanken, mit ihnen der Zeitpunkt der ersten Blutuntersuchungen.

Das Wesen der initialen Vorgänge erblicken wir in der entschiedenen und, soweit die Fälle zu interpolieren sind, nahezu einseitigen Hyperlecithinämie. Sie geht den nächsten Etappen voran und ist gefolgt von einer Umstimmung im Rest-P-(und säurelöslichem P-)Gehalte und (unmittelbar) von den Strömungen, die das Cholesterin, als zweite Stufe des Vorganges, erfassen. Die Zeit, innerhalb der die Hyperlecithinämie allein oder fast allein den Stand des lipämischen Bildes beherrscht, ist bei „reinen" Fällen und den eben tolerierten Dosen auf die Frist bis rd. zur 12. Stunde nach der Intoxikation zu verlegen. Individualisiert sind die Bilder dieser Etappe von den allgemeinen Vorbedingungen, die wir nannten. Das kann zur teilweisen Verwischung des Abschnittes führen, aber nach unserer Ansicht nur insoweit, als die unmittelbare Ingerenz des Cholesterins sich bemerkbar macht. Solche Hyperlecithinämien sind trotz unseres breiten Materials an Intoxikationen bisher nur wenige bekannt. Ihren Charakter als Vorstadium tragen sie besonders im Frühverlaufe der akuten gelben Leberatrophie nach Feigl und Luce[1]). Auch dort folgt ihnen eine Formulierung (Rest-P, Cholesterin usw.) wie die beschriebene. Später tritt das Lecithin (in erster Stufe zum Cholesterin) dann gegen Neutralfett soweit zurück, daß es seinen Platz in dem Grade der allgemeinen Lipämien behauptet (s. u.).

Unmittelbar auf die erste Stufe, und zum Teil in einen gewissen Zusammenhang mit ihr hineingeführt, folgt die zweite, in der die Abartungen der Cholesterinämie sich unzweideutig

[1]) In der letzten Zeit (Juni bis September 1918) sind erstaunlich viele akute gelbe Leberatrophien zur klinischen Beobachtung und Autopsie gelangt. Es sind selbst Fälle dieser Art nach Intoxikationen (Kampfgase) beschrieben worden. Einige, die wir sahen, gingen im schleichenden Verlauf (5 bis 6 Wochen) aus katarrhalischem Ikterus hervor, andere aus völlig dunklen Stadien im explosionsartigen Verlauf (2 bis 3 Tage). Die chemischen Ergebnisse weichen zum Teil von den früheren (Feigl und Luce, 1917, 1918) ab. Sie werden demnächst ausführlicher mitgeteilt werden.

als charakteristisch bemerkbar machen. Während nach unseren Erfahrungen, über die noch zu berichten sein wird, es den bestimmten Anschein hat, daß bei toxischen (relativ groben) Leberschäden (Narkotica aller Art, spez. des Chloroformtyps u. a.) die einleitenden, wennschon kurzen Stadien mit einem Aufflackern höherer Lecithinämien vor dem Anstieg des Cholesterins, erst recht der Herausbildung eigentlicher Lipämien einhergehen, so ist die Abgrenzung immerhin schwierig. Naturgemäß muß die Hyperlecithinämie selbst ceteris paribus auf eine Erhöhung des Gesamtextraktes, des Maßes für „Lipämie", hinauslaufen; zumeist ist ein leichtes, aber in seiner Relation zum Lipoid stehendes Anheben der Werte für Neutralfette gleichzeitig zu beachten. Die Hypercholesterinämie ist keine im ganz strengen Sinne isolierte, indem sie aus der „isolierten" Hyperlecithinämie herauswächst. Sie charakterisiert sich darin, daß das Lecithin stehen bleibt (gelegentlich schon absolut etwas zurückgeht), daß das Neutralfett unmerklich mitfolgt, und daß das Cholesterin unverhältnismäßig (als Gesamtcholesterin) anwächst. Dieses Zuwachsen geschieht primär, wie aus einzelnen Fällen abzusehen ist, durch Zustrom freien Cholesterins. Das kommt im Fall 2, Aca II, wie folgt zum Ausdruck (Termin a zu Termin b, Gesamtcholesterin 210,0 mg [75,0 % Ester] zu 800,0 mg [25,0 % Ester]). Noch typischer ist diese Erscheinung (allerdings schon in die nächste Stufe hineinlaufend) bei Fall 7, a, b, c zu beobachten. Cholesterin (gesamt) geht von 410,0 mg zu 1410,0 mg mit Esterprozenten bzw. 75 und 33. In Fall 6, der der zweiten Phase eingeordnet werden kann, trägt das Gesamtcholesterin 610,0 mg nur 20 % Ester. Dieses zweite Stadium bringt, wenn es durch richtiges Treffen erreichbar gemacht ist, das Aufschnellen des Cholesterins neben der bestehenden Hyperlecithinämie. Der Zuwachs ist zumeist primär durch freies Cholesterin geliefert, so daß die Esterprozente zu fallen beginnen. Die Erscheinung dieser Tatsache (als alleinigem Stück der Entwicklung) hat auch Bürger und Schweißheimer vorgeschwebt, ohne daß ihnen eine genügende Klarstellung gelungen wäre, die sie mit Recht auf die ungünstigen analytischen Vorbedingungen (der älteren Methoden) schoben.

In diesem zweiten Stadium trifft man, was hier vorgreifend zu erörtern ist, häufig Abartungen der Gliederung und Mengen-

verhältnisse des krystalloiden Phosphors. Das Mittel von rd. 3,0 mg säurelöslichem P (mit rd. 15% restlichem) der Norm wird erheblich nach beiden Richtungen überschritten. Man trifft Zahlen um 8,0 mg bis 12,0 mg säurelöslichem Gesamt-P mit meistens 1,0 mg bis 2,0 mg restlichem P. Vielleicht ist es statthaft, diese Rest-P-Welle mit dem Lecithinzerfall (des mobilisierten Organbestandes) zu verknüpfen. Doch darf bei dem ebenso zugewachsenen anorganischen P an die temporäre Nierenschädigung (oder Herzbeeinträchtigung) gedacht werden. Diese Erscheinungen haben wir in der Frist von ca. 8 Stunden bis zu 20 Stunden häufiger angetroffen. Wir erinnern an die akute gelbe Leberatrophie, an Avitaminosen, an Intoxikationen[1]) verschiedener Art, an Myopathien[1]). Möglich ist jedoch auch, daß gerade hier ein Angriff auf Abschnitte des Muskelplasmas gleichzeitig statthat.

Das dritte Stadium suchen wir außerhalb der Verhältnisse, wie sie für die erste Stufe (Hyperlecithinämie) und die zweite (Aufschnellen des Cholesterins) beschrieben wurden. Es ist nicht schärfer zu definieren, als daß man sich auf die Erscheinung bezieht, die durch Auftreten des Fettes im lipämischen Komplexe die relativen Übergewichte an Lecithin und Cholesterin ausgleicht. Auch dieser Vorgang fällt nicht generell an einen Punkt, sondern in ein Intervall, das nicht immer getroffen wird, das aber durch Betrachtung der Nachbarabschnitte gelegentlich, nach Feststellung objektiver Zahlenbefunde, interpoliert werden darf.

Die dritte Stufe enthält die eigentliche Lipämie. Wennschon zugegeben ist, daß Abschnitte dieses Stadiums am ehesten zu treffen und auch am leichtesten analytisch wiederzugeben sind, so knüpfen sich doch andrerseits die meisten theoretischen Bedenken an ihre Ausdeutung, gerade in Hinsicht auf die Existenz echter Lipämien bei schwersten akuten Intoxikationen mit Alkohol. Wie die Durchsicht unseres Materials lehrt, hat man es zumeist 15 bis 25 Stunden nach der erfolgten Intoxikation mit der Herausbildung echter Lipämien zu tun. Doch sind auch diese nur zum allergeringsten Teile sichtbarer Natur. Nur die hohen Grade im Falle 7 waren als „leicht

---

[1]) Noch nicht mitgeteilt.

lipämisch“ zu bezeichnen, für die übrigen bieten sich keine stichhaltigen äußeren Zeichen. Also bleiben auch diese maskierten Charakters. Der Übergang von der zweiten Stufe her — in der das Cholesterin die Höhe erstiegen hatte, wird gekennzeichnet durch das Hinzutreten des Neutralfettes in großen Massen. Versuche, diese lipämischen Bilder durch Strukturverhältnisse und Relationen auf chemisch-beschreibendem Wege gegen andere charakteristische Lipämien abzugrenzen, sind bei dem doch immerhin eng bemessenen Beobachtungsmaterial einstweilen ohne Erfolg gewesen. Diese Lipämien differieren in ziemlich weiten Grenzen und können dem Wesen nach mit denen bei Diabetes mellitus auf eine Stufe treten. Lecithin hat sich zumeist nicht, selten unwesentlich gegen die erste (hyperlecithinämische) Stufe (und gegen die zweite) vermehrt, Cholesterin bleibt in großer Höhe und paßt sich eher dem Bilde mit seinem Anstiege an. Also haben wir, was auch die Prozentzahlen, für die Glieder des Gesamtextraktes angeht, hier ein Vorwalten des Neutralfettes, und man wird auch für diese Lipämie die Anschauung Bloors, die auf benachteiligte Lecithinsynthese hinzeigt, in Anspruch nehmen können, wenn nicht der einleitenden Lecithinausschwemmung aus Organen (Bischoff) Bedeutung eingeräumt wird. Diese Lipämie des dritten Stadiums findet sich in allen Fällen und scheint modifiziert nach den allgemeinen und besonderen Vorbedingungen der Fälle. So zeigt der hinsichtlich der initialen und sekundären Entstehung nicht beobachtete, einem mehrtägigen Dauerversuch der Alkoholaufnahme entsprechende Fall Nr. 3 Aca III eine achtbare Lipämie mit über 40% Neutralfett, 21% Lecithin, 26% Cholesterin. Dieser Fall ist nur darum von Interesse, weil es sich um einen nachweislich gesunden Menschen mit fast völliger Enthaltsamkeit und noch seltenem (ca. 3- bis 4maligen) schweren Alkoholabusus handelt, der nach Ausschaltung der Lipämie wieder normal war. Er stand mehrere Tage unter schwerer Wirkung, die ständig aufgefrischt wurde, und pflegte zwischendurch trotzdem zureichend zu essen, so daß bei ziemlicher Ruhe von einer Hungerlipämie mit Sicherheit keine Rede war. Seine Lipämie von 3,2 g Gesamtextrakt, 410,0 mg Lecithin, 860,0 mg Neutralfett und 520,0 mg Gesamtcholesterin (mit 50% Ester) ist gegen die oberen Grenzen der Norm beträcht-

lich. (Diese sind 0,85 g bzw. rd. 300,0 mg bzw. rd. 200,0 mg; bzw. rd. 300,0 mg mit rd. 60% Ester.)

Von dieser Beobachtung aus können wir den übrigen nähertreten. Bürger und Schweißheimer stellten Versuche mit hohen Blutentziehungen an. Diese Tatsache entwertet Befunde und Verrechnung von sich aus zum Teil gegenüber der Frage der eigentlichen Lipämie. Die Autoren führen selbst die Hungerlipämie als bedenklichen Gegeneinwand an. Diese ist umstritten gewesen (Schulz, Daddi, Freudenberg, Kumagawa und Kaneda, Sakai usw.), bis Bloor endgültig Licht in die Frage brachte. Bloor wies überzeugend nach, daß eine Hungerlipämie auf dem Boden eines fetten oder gut genährten Organismus wachse, daß sie bei mageren Individuen fehlen könne. Wir möchten nach bestimmten, noch zu besprechenden Anhaltspunkten der Auffassung Raum geben, daß im ersten Falle eine Lipämie entstehen könne, daß aber an ihrer Art, Form, zeitlichen Bildung, noch andere Faktoren bestimmend mitwirken dürften. Wir haben es bei unseren Fällen zweifellos häufig mit Vorbedingungen zu tun, die auf solche Hungerlipämien ein Licht werfen. Die klinische Lage der Patienten (z. B. Nr. 1, Aca I) ist oft so kritisch, daß die Ernährung in jeder Form aussetzt. Doch finden auch mittlere Wege ihre Möglichkeit. Nun haben wir, wie die klinische Beschreibung der Fälle dartut, es mit den verschiedensten allgemeinen Zuständen zu tun. Lipämien traten immer auf. Die Größenabweichungen sind nicht unbeträchtlich und mögen tatsächlich mit der Körperbeschaffenheit (Fett) im ursächlichen Zusammenhange stehen. Das macht Fall 7 wahrscheinlich im Vergleich zu Fall 6. Aber immerhin sind überall diese Lipämien aufgetreten. Die Beurteilung trifft auf die Erwägung, daß vielleicht nicht in allen Fällen der wirkliche Höhepunkt zahlenmäßig und zeitlich zu treffen wäre. Danach verlieren auch eingehendere Erwägungen an Hand von sog. Höchstzahlen zum Teil an Boden. Wenn wir über die höchsten Zahlen zusammenfassend berichten, so sind es solche 8,4 g und 7,2 g Extrakt bei Fall Nr. 7, Aca VII (b, c), ferner solche rd. 1,2 g bei Fall Nr. 5, Aca V, und von 1,36 g bei Fall 6, Aca VI; von 1,45 g bei Fall 4 Aca IV (a); von 3,2 g bei Fall 3, Aca III (a); von 3,5 g bei Fall 2, Aca II (b); von 2,7 g und 3,25 g (auch von

1,15 g und 1,1 g) bei Fall 1, Aca I (b, c) usw. Auf die Relationen und Prozentgehalte sei hingewiesen. Unter diesen sei auf das Zuwachsen (absolut oder relativ) der Cholesterinester mit der Länge der Zeit (des Bestehens oder der Liquidation) von Lipämien hingewiesen.

Zur Beurteilung dieser Zahlen mögen die Normalien nach Bloor und Feigl dienen. Mittel bzw. Extreme sind für Gesamtextrakt 750,0 mg; 550,0 mg bis 850,0 mg Gesamtfettsäuren 400,0 mg; 350,0 mg bis 500,0 mg; Lecithin 250,0 mg, 150,0 mg rd. 300,0 mg; Gesamtcholesterin 220,0 mg; 190,0 mg bis 300,0, dessen Esterquote 58%; 43 bis 75% Neutralfett rd. 100,0 mg 40,0 mg bis 200,0 mg, sämtlich berechnet für 100 ccm Plasma. Relationen I von 200, 1,70 bis 2,70; II 0,9, 0,75 bis 1,25.

Was die Liquidation pathologischer Lipämien aller Formen und Grade angeht, so sei auf die Untersuchungen von Bloor (mit Joslin und Horner) bei Diabetes, die neuesten von Feigl über cholämische und diabetische und cirrhotische Lipämien hingewiesen. Die alten Zahlen von Speck verdienen Erwähnung (s. o.). Naturgemäß wäre die Annahme, daß die pathologischen Lipämien, die auf der Basis einer dauernden (prinzipiellen) Leberschädigung entstehen, anderen Bedingungen für ihren Abbau (bes. zeitlicher Verlauf, doch auch Form in Rücksicht auf die Glieder des Komplexes) unterworfen seien, als die eines einmaligen schweren, aber reparablen Insultes auf das Organ. Vielleicht ist auch die chemische oder physikalisch-chemische Natur des Fett-Lipoidgefüges hier von gewissem bestimmendem Einflusse. Es würde denkbar sein, daß das durch Eiweißbindung maskierte Gemenge (v. Liebermann, Mansfeld, s. o.) nicht in dem Sinne plasmafremder Ballast sei, wie es für das freie Lipämiefett angenommen werden kann.

Die in Rede stehenden Lipämien bei schweren akuten Alkoholintoxikationen scheinen, verglichen mit sonstigen, einem zeitlich verkürzten Abbau unterworfen zu sein. In dieser Richtung (des zeitlichen Schwindens von Lipämien) sind noch Vergleichsuntersuchungen nötig.

Wenn es nun auch nicht von der Hand gewiesen werden kann, daß die kurze Inanition an der Herausbildung der Lipämien Anteil hat, so möchten wir doch aus der Gesamtheit des Materials schließen, daß diese Einflüsse keineswegs allein

maßgebend sein können. Das mindeste, was man annehmen darf, ist, daß die Alkoholintoxikation das Auftreten „blockierten" Fett-Lipoidzuwachses im Plasma beschleunigt, verstärkt, charakterisiert, auch da, wo keine oder wenig Aussicht auf Hungerlipämie besteht, diese vielleicht überhaupt zuwege bringt. Der Sitz der Schaffung und Regelung einschlägiger Umstimmungen muß die Leber sein, die vielleicht temporär lahmgelegt wird und zur Anhäufung des Fettes und der Lipoide im Blute führt. Vielleicht sind parallel dessen Fermentkräfte beengt oder abgelenkt, worüber noch Anhaltspunkte auf experimentellem Wege zu beschaffen sein werden. Jedenfalls aber weist die Eigenart der initialen Vorgänge darauf hin, daß außer der Lahmlegung einschlägiger Funktionen (spez. in der Leber, die ja auch den Cholesterinumsatz „regelt") wenigstens abschnittsweise, vielleicht regional begrenzt oder chemisch spezialisiert, eine Mobilisation höhern Grades (ein Abtransport aus Depots usw.) vorgängig statthat (Lecithin, s. o.).

Die Liquidation jeder Lipämie braucht, wie derzeitige Anschauungen (bes. von Magnus-Levy früher und jetzt betont und belegt) lehren, längere Fristen. Daher bedarf auch hier der Vorgang gewisser Zeit, wennschon die Funktionstüchtigkeit der Leber nur einen einmaligen (wennschon schweren) vorübergehenden und ziemlich schnell heilbaren Schlag erlitten hat. Die Liquidation ist also auf schnelleren Verlauf gestimmt, als man es bei bleibenden Schäden des Fettstoffwechsels zu sehen pflegt.

Für die allgemeine Pathologie der beschriebenen Fälle müssen wir uns noch auf Überlegungen beziehen, die den sogen. normalen Stand der einschlägigen Werte als wandelbar (in gewissen Grenzen) mit der allgemeinen alimentären Lage anzusehen geneigt sind. Dabei darf also nicht nur die obere Schwelle der allgemeinen Norm als Grundwert zum Vergleich von berechtigtem Nutzen sein.

In den vorstehenden Ausführungen zu dem Materiale über akute schwere Alkoholintoxikationen haben wir uns auf den von Fahr gewählten Standpunkt der „reinen" Fälle in tunlichst weitgehendem Maße gestellt. Dazu gehört in dieser Angelegenheit für die Fälle der feste Anhalt, daß chronischer Alkoholismus nicht vorliegt. Diese Forderung läßt uns aus der

engeren Wahl zur Beurteilung manche Fälle ausschließen, die für sich beurteilt und nach obigen Befunden ihrerseits den allgemeinen Anschauungen unterstellt werden können.

Unsere Beobachtungen bei schwerster (lebenbedrohender) akuter Alkoholintoxikation lassen folgende Schlüsse zu.

Die lipämischen Umstimmungen betreffen prinzipiell nur das Plasma. Sie entwickeln sich in bestimmter Weise durch die Aufeinanderfolge von drei Stufen, die u. U. zeitlich und genetisch trennbar und darstellbar sind. Die erste besteht in einer (vorwiegenden bis nahezu reinen) Hyperlecithinämie (initialer Vorgang) bei den möglichen Verhältnissen in 3 bis 8stündiger Periode. Die zweite bringt ein Aufrücken von Cholesterin durch größeren Zustrom freien Lipoids; dabei bleibt die Hyperlecithinämie fast stets erhalten, und es findet nur in unbedeutendem Grade ein Wandel im Gehalt an Neutralfett statt. Die dritte (eigentlich endliche) Stufe folgt auf die zweite (etwa bis zur 15. und 20. Stunde, laufende) Periode mit dem Auftreten und dem zumeist schleunigen und massenhaften Einsatz von Neutralfett. Sie hebt die Lipämie auf den Gipfel. Die Liquidation ist relativ (gegen pathologische Formen) schleunigem Abbau zugänglich.

Die Bewertung der drei Stufen weist darauf hin, daß die beiden ersten Stufen mehr oder minder als reine Ausdrücke der schweren Intoxikation zu gelten haben. Erstere haben Feigl sowie Feigl und Luce bei Leberatrophie usw. gesehen. Beiden kann eine Mobilisation gemeinsam mit einer Leberschädigung. (bes. Cholesterin) zugrunde liegen. Die dritte Stufe kann in gewissem Grade als durch Hunger (bei geeigneten Fällen) mit beeinflußt gelten. Doch wird ihr unter Rücksicht auf die zulässigen Schlüsse aus der Natur der Fälle die Auffassung unterstellt, durch die Alkoholwirkung beschleunigt, gesteigert oder (bisweilen) hervorgelockt zu sein. Chemisch gegen sonstige Lipämien abgrenzbar ist diese nach bisherigen Ansichten nicht, s. a. Maskierung.

Ein Charakteristicum kann im gewissen Grade in der (nicht bzw. kaum cholämisch begründeten) fast völligen Maskierung hoher Grade von Lipämien liegen.

Die Erythrocyten scheinen anfangs etwas Lecithin einzubüßen, dann schnell zu ersetzen.

Der Alkoholgehalt von Blut und Plasma kann bis 7,0 g ‰ steigen, bleibt meist darunter.

Der Hyperlecithinämie folgen relativ hohe Zahlen für den säurelöslichen und restlichen Phosphor, zwar nicht so hoch, wie bei Leberatrophie beobachtet.

Es werden (initial) häufiger Hyperglykämien und (leichte) Glucosurien beobachtet. Im Gebiete des Reststickstoffes fanden sich merkliche Abweichungen gegen die Norm, die den R.-N, den $\overset{+}{\mathrm{UrN}}$ usw. betreffen.

Im Serum war mehrfach Ht in geringen Mengen nachweisbar. Es fand sich Bilirubin in mäßig übernormalen Mengen. Es hatte meist den „hämolytischen" Charakter.

Die Chemie des Blutes war im übrigen wenig oder gar nicht alteriert; mäßig das R.-N-Gebiet.

Urologisch darf zum Teil auf temporäre (mindere) Nierenschädigungen geschlossen werden.

Will man trotz der sonstigen (s. o.) Schwierigkeiten einen Vergleich mit den Versuchen von Bürger und Schweißheimer ziehen, so werden obige Fälle etwa $^1/_5$ bis $^1/_3$ der dort eingeführten Alkoholmenge, zumeist gut $^1/_4$ erhalten haben.

Chronischer Alkoholismus.

An den vorstehenden Ergebnissen werden nunmehr die Befunde bei „reinen" Fällen (Fahr) von echtem chronischen Alkoholismus zu prüfen sein[1]). Wir müssen uns dabei vorhalten, daß es sich mit Ausnahme des Falles 7 eigentlich nur um gemäßigte oder geringere Lipämien handelt, nicht um gewaltige. Doch sind sie — zwischen 1,0 g und rd. 3,0 g Gesamtextrakt immerhin achtbar gegen die mittlere Norm oder hohe Norm abgegrenzt. Fall 7 brachten wir, was seine lipämischen Bilder angeht, mit dem erheblich besseren Körperzustande, spez. dem Fettpolster in ursächlichen Zusammenhang. Doch sprechen wir Differenzen der geschilderten Art nur als graduell, nicht als prinzipiell an.

---

[1]) Unter den einschlägigen Fällen befinden sich ziemlich häufig solche, die in dauernder Beobachtung standen und deren Lebenshaltung bekannt war usw.

Bei den chronischen Fällen spielen nun die allgemeinen pathologischen Vorbedingungen eine gesteigerte Rolle. Es handelt sich in vielen Fällen um Personen, bei denen bereits Organschäden verschiedener Art vorhanden sein können, die zwar überwiegend in der Gruppe reiner Fälle nach Fahr derselben gut charakterisierten Richtung angehören. Auch der Ernährungs- und Kräftezustand sowie die fallweisen Ernährungsbedingungen sind häufig schlechter. Neben dem Alkohol wird wenig genossen. Fettleibige Alkoholisten (vom Typ der Gastwirte, die zugleich reichliche Ernährung bevorzugen) stellen ein bemessenes Kontingent und entfernen sich von der großen Menge. Die Unterschiede zwischen der Art und Wirkung der konsumierten Getränke kommen hier zu Gewicht. Wir müssen uns an die Schnapssäufer halten und dabei mit berücksichtigen, daß der (aromatische usw.) Nebencharakter der Stoffe vielleicht mit der Länge der Zeit zur Auswirkung kommt. Ferner haben die ganz ordinären Schnäpse zuzeiten Anlaß zu besonderen toxikologischen Untersuchungen gegeben (Methylalkohol). Wir haben Leute gesehen und untersucht, denen Beimengungen mit vergälltem Sprit (ja dieser selbst) Genußmittel waren. Ob in solchen Fällen die von Fischler gegebene, von Fahr geforderte toxische Kombination zum Entstehen von Cirrhose vorliegt, ist nicht ausreichend bekannt. Mit dem schlechten allgemeinen Zustande, den Wechseln und Abschnitten mit fallweiser Unterernährung usw. müssen bereits Erscheinungen in der Blutzusammensetzung sich bemerkbar machen, die ohne den Alkohol Ausschläge gegen die Norm zeigen können.

Werden auf diese Weise die Verhältnisse verwickelter, so sind es gerade die toxikologischen Bedingungen, die vereinheitlichend, charakterisierend, stärkend wirken, so daß das Bild ein ziemlich geschlossenes wird.

Die speziellen Angaben lassen sich in folgender Weise formulieren. 1. Erhebungen über die Häufigkeit lipämischer Abweichungen bei chronischem Alkoholismus. 2. Charakterisierung dieser im chemischen Sinne (Grad, Aufbau, zeitliche Verhältnisse der Herausbildung und des Schwundes. 3. Ihre Abhängigkeit vom allgemeinen Zustande. 4. Ausgehend von dem (in seiner Feststellung) älteren und beweiskräftig dargestellten anatomischen Bilde der Fettleber (als „Säuferleber“)

läßt sich die Frage stellen, ob die Grade der Verfettung des Organs zu sichtlichen Erscheinungen der Lipämie im Blute (zeitlich, graduell, strukturell) in Beziehung stehen, oder ob die temporären Wechsel (der Ernährungsbedingungen) diese Verknüpfung nur zufällig zu treffen gestatten. 5. Alle Erhebungen sind auf „reine Fälle“ nach Fahr und auf weiter (besonders in toxischer Hinsicht) komplizierte auszudehnen.

Es wurden 22 männliche Fälle (im Sinne von Fahr) intra vitam (ohne anatomischen Befund bezügl. Leber) untersucht. Die klinischen Erscheinungen waren typisch und die des Allgemeinzustandes (Fett usw.) wurden neben der (vor der Untersuchung bestehenden) Ernährungsmöglichkeit besonders gewürdigt. Dazu kommen 8 Frauen (entsprechend). Die Möglichkeit, daß im Bestande von Fetten und Lipoiden des Blutes zwischen dem (erwachsenen) männlichen und weiblichen Organismus gewisse Unterschiede bestehen, kann für die Norm eingeräumt werden (Bloor, 1916). Sie scheint dem Verfasser bisher dagegen nicht ausreichend belegt, um in solchen Fragen als Unterlage eingeführt zu werden. Es handelt sich in dieser Gruppe um schwere Schnapssäufer zumeist noch durchschnittsgemäßen Ernährungszustandes.

Von diesen 30 Fällen, die bei der Aufnahme noch im zumeist ziemlich benommenen Zustande untersucht wurden, zeigten nur 6 (20%) eine mehr oder minder sichtbare (leichtere) Lipämie. Von dem Reste (80%) ergab jedoch die chemische Blutuntersuchung auf Fette und Lipoide unter Einrechnung der Konzentrationsverhältnisse des Plasmas eine Gruppe von 20 Leuten (66% der Gesamtzahl) lipämische Befunde mittleren Grades. Der Gesamtextrakt lag immer über 1,0 g für 100 ccm Plasma und gruppierte sich für diese Reihe um rd. 2,5 g. Cholämien entscheidender Art spielten keine Rolle. Es hinterblieben aus der Reihe sonach 28% (oder weniger als ein Drittel) ohne chemische Lipämie. Bei diesen letzteren handelt es sich zumeist um Leute geringeren Ernährungszustandes. Für alle wird eine eigentliche Nahrungsenthaltung oder entscheidende Beschränkung nicht zugestanden werden dürfen.

Die Frage, ob die sichtbaren Lipämien oder die maskierten in der absoluten Höhe auffallender waren,

kann folgendermaßen beantwortet werden, wobei jedoch schon die Angelegenheit des chemischen Baues der Lipämien mit hineinspielt. Die 6 „sichtlich" lipämischen Fälle zeigten Gesamtextrakte von 1,8 g, 2,5 g, 2,6 g, 2,7 g, 3,8 g, 6,6 g für 100 ccm Plasma. Unter den 20 Fällen mit maskierter Lipämie (höchstens Trübung!) finden sich 5 mit Extrakten über 3,0 g, im einzelnen 3,3 g, 3,5 g, 4,5 g, 5,3 g, 6,8 g.

Also sind nach den Höhen des Extraktes (auch bei der sonstigen Abweichung in der Konzentration) die maskierten nur seltener mit hohen Stufen vertreten. Doch ist der Unterschied nicht grundsätzlich.

Die Struktur der Lipämien weist folgende Züge auf. Die sichtbaren Formen sind chemisch so gebaut, daß sie der echten diabetischen Lipämie täuschend ähnlich sind, d. h. sie zeigen das entschiedene Vorwalten des Neutralfettes unter mäßigem Rückgang des Cholesterins (gesamt) und unter auffälligem Rückgang des Lecithins. Die maskierten Formen entsprechen einem Bilde, in dem diese Anordnung sehr selten ist. Gerade bei den stärkeren Graden ist Lecithin, dann auch Cholesterin sicher beteiligt. Die Esterquote des Cholesterins ist auf beiden Seiten schwankend eingegliedert.

Nimmt man diesen erweislichen Unterschied — nach den großen Anteilen beider Gruppen ist er typisch — zum Ausgangspunkte einer Betrachtung, so wird man auf die „akute, schwerste" Intoxikation verwiesen. Dort ist die vorherrschende (maskierte) Lipämie dem Initialstadium entsprechend. So ist auch bei chronischen Fällen (alle sind Wa. Ø; im Interesse der Klarstellung der Hyperlecithinämie!) vermutlich mit Schüben zu rechnen, die einem Potus entsprechen, der auf mehrere Ruhetage einsetzt. Diese Gliederung konnte aber bisher (ätiologisch) im Sinne einer guten Statistik nicht ausreichend verfolgt werden. Beweiskräftig scheint nur, daß von 8 Fällen, die nach mehreren Tagen zum zweitenmale entsprechend untersucht werden, an Stelle der anfänglichen, maskierten (hyperlipoidischen) Lipämie 6 eine sichtbare, entschieden und hauptsächlich auf Fett weisende Lipämie (gegen den Aufnahmebefund zumeist nur ein wenig geminderten Grades) zeigten.

Von 9 schweren Biersäufern mittlerer Körperbeschaffenheit zeigten bei der Aufnahme 3 eine mäßige bis stärkere sichtbare Lipämie (1,8 g, 2,1 g, 3,1 g) und 2 eine maskierte Lipämie (2,4 g, 2,6 g).

Von 7 fettleibigen Alkoholikern mit nicht entschiedener Richtung des Potus (Bier, Schnaps) vom Charakter der Gastwirte zeigten 4 entschiedene Lipämien (wovon eine maskiert). Hier war die Abgrenzung (als „reine Fälle“) schwierig.

Die Maskierung soll trotz der obigen und u. E. überzeugenden Statistik nicht gänzlich auf die Hyperlipoidämie geschoben werden. Cholämien spielten nur eine geringe Rolle.

Der Versuch, sichtbare Beziehungen zwischen Lipämien und Ernährungszustand zu konstruieren, ließ sich nicht durchführen. Ein Fall mit hoher Lipämie (6,6 g) ist in 22 Wochen (bei ca. 15maliger Untersuchung) nicht zum Schwinden der erhöhten Zahlen gekommen (Schlußwert noch 2,1 g), so daß die Schädigung unabhängig von dem akuten Potus bestehen mußte. Die Diskussion des Lebensalters (nach Stufen) und die des Geschlechtes ergab bisher nicht den gewünschten Anhalt. Graviditäten lagen bei den 8 weiblichen Säufern nicht vor, die auf den Charakter der lipämischen Umstimmung hätten einwirken können.

Die chemische Blutuntersuchung der Seitenfragen ergibt hier verwickeltere Werte als bei den akuten Fällen. Im „frischen“ Zustande werden Hyperglykämien, hohe Reststickstoffe, gesenkte Alkalescenz u. a. gefunden. Bilirubinämien sind selten, Hämatinämien waren nur in 2 (von 30), Fällen, ohne daß eine andere Verknüpfung zulässig schien, annehmbar.

Nach obiger Zusammenstellung einer zwar ziemlich begrenzten, aber dafür eingehend untersuchten Beobachtungsreihe sind Lipämien bei chronischem (Schnaps-) Alkoholismus häufig. Ihr äußeres Verhalten und ihre chemische Gliederung (zum Teil gegenseitig verknüpft) können variieren.

Die eingehende analytische Wiedergabe der lipämischen Blutbilder erübrigt sich nach dem Gesagten. Als wesentlich möchten wir auch für diese Gruppe betonen, daß die Lipämien zwar als solche in gemäßigten Graden offenbar dauernd da sind, daß aber neue Schübe bei frischen Intoxikationen einsetzen,

die aus Lipoidämien bestehen und den Entwicklungsgang bei schweren akuten Intoxikationen dann dem Dauerzustande aufpfropfen.

Von hypolipasen Qualitäten des Blutes ist nach Ausweis der Protokolle für 6 entsprechend geprüfte Fälle keine Rede. Ob bei schweren akuten Vergiftungen Lahmlegung, wenigstens zeitweilig, erfolgt, bedarf näherer Untersuchung. Einer ferneren Besprechung seien gleichfalls die übrigen Ergebnisse der chemischen Blutuntersuchung vorbehalten. Die lipämischen Umstimmungen sind fast ausschließlich plasmatischer Natur, wenn auch die cytologischen Eigenschaften des Blutes fallweise von der Norm abarten.

Die Untersuchung weniger reiner Fälle wurde durchgeführt. Es fanden sich Lipämien. Doch ist eine Ausdeutung und Beschreibung für das Alkoholproblem z. Zt. vermutlich noch nutzlos.

Die Aufgabe, zwischen dem Grade der Verfettung des Organs (Leber) und dem kreisenden Fette und Lipoidgemenge nach dessen Struktur und absoluten Massen eine ersichtliche Relation zu finden, wurde nur an 12 Fällen betätigt. Von einem Parallelismus beider Erscheinungen darf nach diesem begrenzten Beobachtungsmaterial nicht gesprochen werden, so daß weitere Erhebungen nötig sind. Wir stellen uns die einschlägigen Verhältnisse bisher so vor, daß die Verfettung des Organs an sich ein Dauerzustand ist, der zwar gelegentlich neu belebt und erzeugt werden kann. Die Lipämie wird nun zwar an und für sich auch eine konstante Erscheinung, doch ist sie dieses in an sich geringem Grade. Die Schübe, die sie erfährt, sind energischer und nachhaltiger, dabei nach bisheriger Vorstellung des Verfassers keineswegs vom Zustande des fettbeladenen Organs allein abhängig. Die Hyperlipoidämie, die durch neue Anstöße erfolgt, ist vermutlich auf eine allgemeinere Mobilisation gestellt. Dagegen darf die Grundlipämie, die ziemlich resistent und oft genug kaum liquidierbar ist, mit dem Dauerzustande des Organs in festen Zusammenhang gesetzt werden. Zur Erhärtung bzw. Ergründung solcher Beziehungen sind weitere Untersuchungen nötig.

Verfasser hielt es bei den fast völlig fehlenden einschlägigen Ergebnissen nicht für unangebracht, sein ziemlich begrenztes Material zu publizieren und dessen Ergebnisse zu

Anschauungen zu formen. Auch dieses verdankt er nur dem Umstande, daß ihm außerhalb des Kreises der eigenen Anstalt, teils durch auftragsgemäße oder erbetene gutachtliche Arbeit, teils durch liebenswürdige Unterstützung einschlägige Fälle zugingen. Diese stammen fast ausschließlich aus früheren Kriegsjahren, da erfreulicherweise der nutzlose und schädliche Alkoholmißbrauch zurückgegangen ist. Die Hauptaufgaben des Gebietes dürften indes geklärt sein und sind weiterer Förderung sicher.

Schlußsätze.

Es werden an einigen Fällen von schwerstem, akutem Alkoholmißbrauch das Erscheinen, die Natur und die Umformung der toxischen Lipämie geschildert. Sie durchlaufen drei Stadien. Fernere chemische Blutbefunde sind erhoben worden. Chronischer Alkoholismus zeigt Lipämien, in denen sich zeitweilig die Entwicklung derjenigen bei akuter Vergiftung reproduziert. In der Herausbildung und Abwicklung, auch in der Struktur, sind Differenzen nachweisbar. Bei chronischem Alkoholismus lassen sich Schübe von dem typischen Dauerzustande trennen. Durchsichtige, graduelle (oder qualitative) Beziehungen zwischen Organverfettung und Lipämie bestehen vermutlich kaum.

Berichtigung

zu der Arbeit des Verfassers:

„Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im menschlichen Blutplasma bei Ikterus und Cholämie". Chemische Beiträge zur Kenntnis spezifischer Lipämien III, diese Zeitschr. **1918**, **90**, 1/2 steht in Tab. V (Gruppe IV der Fälle), Rubrik G irrtümlich im linken Stabe unter Cholesterin „frei", statt wie in den übrigen Tabellen I bis IV „gesamt" (als Unterlage für die rechte Kolumne „Ester in Proz." vom Gesamtcholesterin).

Trotz freundlicher Bemühungen des Verlags gelangte die umbrochene Revision wegen der Zeitverhältnisse nicht in meinen Besitz. Notwendige Berichtigungen folgen an gegebener Stelle.

Über die Wirkung von Curare und verschiedenen Narkotica auf den Gaswechsel.

Von
weil. Prof. **Franz Tangl**,
nach hinterlassenen Protokollen und Notizen zusammengestellt
von
Fritz Verzár[1]).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor weiland Professor Franz Tangl]).

(Eingegangen am 30. August 1918.)

Bei allen Untersuchungen über den Einfluß gewisser chemischer oder physikalischer Einwirkungen auf den Stoffwechsel und ebenso bei Untersuchungen, die die Ermittlung des Anteiles der einzelnen Organe oder von Organgruppen oder auch gewisser physiologischer Funktionen am Stoffwechsel bezwecken, ist es von der allergrößten Wichtigkeit, solche Versuchsbedingungen

[1]) In den Jahren 1911 bis 1914 habe ich auf Wunsch von Herrn Prof. Tangl zahlreiche Versuche ausgeführt, die bezweckten, die von ihm veröffentlichte Curare-Methode zu beleuchten und zu kontrollieren. Einen Teil dieser Versuche hat Prof. Tangl in den Mitteilungen der ungarischen Akademie der Wissenschaften (Mathem. és Term. Értesitö Bd. 32, 1914) bereits veröffentlicht, und auf Grund von Referaten sind seine Angaben bereits wiederholt zitiert worden. Deshalb scheint es wünschenswert, diese Versuche auch in deutscher Sprache und in extenso zu veröffentlichen, was, wie aus hinterlassenen Aufzeichnungen hervorgeht, auch Prof. Tangls Absicht war. Auf Grund seiner kurz gefaßten ungarischen Mitteilung und dieser hinterlassenen Notizen sind diese Zeilen zusammengestellt. Ich glaube im Sinne von Prof. Tangl zu handeln, wenn ich fast nur die Literatur benütze, über die seine eigenen Notizen vorhanden sind, und insbesondere die seit Veröffentlichung seiner ungarischen Mitteilung erschienenen Publikationen über Muskeltonus hier nicht berühre.
Verzár.

zu schaffen, die alle störenden und ganz besonders alle nicht meßbaren Einflüsse ausschalten oder unwirksam machen.

Bekanntlich haben von allen Organen die Muskeln, die auch der Masse nach den größten Teil des Körpers ausmachen, den bedeutendsten Anteil am Stoffwechsel und somit durch Verminderung ihres Funktionszustandes auch den größten Einfluß auf denselben, der ganz besonders beim Sauerstoffverbrauch und bei der Kohlensäureproduktion in Erscheinung tritt. Es ist demnach die ebenfalls allgemein bekannte Tatsache leicht begreiflich, daß die willkürlich innervierte Muskulatur durch Veränderungen ihres Contractionszustandes die bedeutendsten Schwankungen im Gaswechsel erzeugt, was um so schwerer ins Gewicht fällt, als die Muskulatur eben durch das wechselvolle Spiel der willkürlichen Innervation ständig in einem außerordentlich veränderlichen Funktionszustand sich befindet, der zwischen völliger Erschlaffung und stärkster Contraction mannigfaltige Variationen aufweist.

Es müssen also bei allen Stoffwechseluntersuchungen möglichst alle störenden Momente ausgeschaltet werden, und nachdem das störendste die unkontrollierbar variierenden Funktionszustände der quergestreiften Muskulatur sind, weil diese den größten Anteil am Gas- und Energiewechsel hat, so muß womöglich deren Rolle ausgeschaltet werden.

Hierzu muß man entweder den gleichen Funktionszustand der Muskulatur erzeugen oder die Möglichkeit, diesen Zustand zu verändern, ausschalten. Beim Menschen kann man durch vorsätzliche Muskelruhe bei geübten Personen tatsächlich einen sehr konstanten Gaswechsel erreichen. Im Tierversuch ist das jedoch sehr schwierig. Meistens gelingt es nur bei gut dressierten Hunden, und auch dort natürlich nur dann, wenn während des Gaswechselversuchs keine besonderen Eingriffe gemacht werden.

Deshalb war es wichtig, eine Methode zu schaffen, in der die Beeinflussung des Stoffwechsels durch Muskelbewegung ausgeschaltet werden konnte. Inwiefern hierzu Curare sowie verschiedene andere Narkotica geeignet sind, soll hier gezeigt werden.

Am geeignetsten schien a priori die Ausschaltung der willkürlichen Innervation der Muskulatur durch Curare, worauf bereits

1884 Zuntz[1]) hingewiesen hat und wie sie in einer früheren Arbeit von Tangl[2]) bereits ausführlich beschrieben wurde. Mit dieser „Curaremethode" wurden bereits zahlreiche Untersuchungen über den Anteil von verschiedenen Organen am Stoffwechsel (Niere, Leber, Pankreas, Milz, Darm), ferner Versuche über Verdauungsarbeit und Versuche über die Wirkung verschiedener Substanzen auf den Gaswechsel (Kochsalz, Zucker, Stärke) ausgeführt, auf die hier nur verwiesen sei[3]).

Bereits Zuntz hat in seiner erwähnten Arbeit hervorgehoben, daß das Curare, in nicht zu großen Dosen angewandt, den Stoffwechsel und insbesondere auch die Funktion aller anderen Organe (Herz, Niere, Leber, Zentralnervensystem) unbeeinflußt läßt. Bezüglich des Einflusses, den es auf den Gaswechsel des ganzen Körpers dadurch ausübt, daß es die motorischen Nervenendigungen lähmt, gingen die Anschauungen recht auseinander. Die Klärung dieser Frage hat in Anbetracht auf die Curaremethode der Gaswechseluntersuchung insofern eine Bedeutung, als es von Wichtigkeit ist, zu wissen, inwiefern der Gaswechsel des curarisierten Tieres dem des normalen entspricht. Andererseits hat aber die Frage nach der Wirkung des Curare noch eine andere Bedeutung, weil sie uns Antwort darauf geben kann, inwiefern durch Erregungen, welche durch die motorischen Nerven zum Muskel gelangen, ein erhöhter Gas- und Energiewechsel im Muskel aufrechterhalten wird.

Röhrig und Zuntz[4]) (1871) haben zuerst in ihrer Arbeit „Zur Theorie der Wärmeregulation und der Balneotherapie" das Curare zu Respirationsversuchen verwendet. Sie vergifteten Kaninchen mit Curare, führten künstliche Atmung ein und untersuchten die Respirationsgase. Zwecks Konstanthaltung der Temperatur des Tieres brachten sie dieses in ein warmes Bad. Sie fanden, als Einfluß des Curare, eine bedeutende Abnahme sowohl des Sauerstoffverbrauchs als der Kohlensäureproduktion (54 bis 88%). In einer späteren Arbeit berichtet Zuntz[5]) (1876)

[1]) Zuntz, Über die Benutzung curarisierter Tiere zu Respirationsversuchen, 1884.
[2]) Tangl, Die Arbeit der Nieren usw., diese Zeitschr. **34**, 1, 1911.
[3]) Tangls und seiner Schüler Arbeiten, diese Zeitschr. **1910** bis **1914**.
[4]) Röhrig und Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. **4**, 57, 1871.
[5]) Zuntz, Über den Einfluß der Curarevergiftung auf den tierischen Stoffwechsel, Arch. f. d. ges. Physiol. **12**, 522, 1876.

wieder über eine bedeutende Abnahme des Gaswechsels (ca. 50 %). Aus diesen Versuchen wurde gefolgert, daß beim curarisierten Tiere die Wärmeregulierung aufgehoben oder doch wesentlich beschränkt ist. Der größte Teil des Stoffwechsels ginge in den Muskeln vor sich und würde durch Innervation angeregt. Die Wärmeregulation wäre wahrscheinlich in erster Linie durch beständige schwache reflektorische Erregung der motorischen Nerven bedingt, die in den Muskeln, ohne Zuckungen oder Tetanus zu verursachen, eine gewisse ständige Spannung verursachen, einen Tonus, der auf Grund von vermehrtem Stoffwechsel aufrechterhalten wird. Dieser Tonus wurde von ihnen auch als „chemischer Reflextonus“ bezeichnet. Durch das Curare werden die Nervenendigungen der motorischen Nerven gelähmt, wodurch dieser Tonus aufhört. Der große Ausfall im Gaswechsel, der nach Curaresierung von Kaninchen sich zeigt, würde beweisen, daß bei diesen Tieren ein recht bedeutender chemischer Reflextonus vorhanden ist, der etwa ein Drittel vom ganzen Sauerstoffverbrauch bzw. dem Energiebedarf des Tieres ausmacht.

Pflüger[1]) (1878) hat in seiner berühmten Arbeit „Über Wärme und Oxydation der lebendigen Materie“ diese Resultate bestätigt und ergänzt. Er fand am Kaninchen eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs „nach energischer Curarisierung“ um 35,2 % und der Kohlensäureabgabe um 37,4 %. Ähnliche Werte erhielt Pflüger auch in einer anderen Versuchsreihe, in der zwecks Aufhebung der motorischen Innervation das Rückenmark zwischen letztem Hals- und erstem Brustwirbel durchschnitten wurde. Pflüger[2]) hat auch sonst den Standpunkt vertreten, daß „Curare die Temperatur regulierende Wärmeproduktion total paralysiert“.

Diesen Befunden standen aber solche von Frank und Voit[3]) (1901) gegenüber, die diese Autoren an Hunden gewannen. Sie fanden gar keinen Unterschied im Kohlensäureverbrauch von ganz ruhig liegenden und von curarisierten Hunden. Hieraus ließ sich weiterhin folgern, daß die Muskeln

[1]) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 18, 247, 1878.
[2]) Pflüger, Antwort auf die berichtigenden Bemerkungen des Herrn Prof. Senator, Arch. f. d. ges. Physiol. 14, 450.
[3]) Frank und Voit, Zeitschr. f. Biol. 42, 309, 1901.

eines ruhenden Hundes in keinem solchen chemischen Reflextonus sich befinden, wie jene des Kaninchens. Auch A. Loewy fand zwischen dem Gaswechsel eines schlafenden Menschen, wenn die Muskeln also ganz erschlafft sind, und dem Gaswechsel desselben bei vorsätzlicher Ruhe gar keinen Unterschied. Nach Loewy wäre also auch beim Menschen kein chemischer Reflextonus vorhanden.

Curareversuche.

Schon diese widersprechenden Versuchsergebnisse ließen es, abgesehen von dem methodologischen Interesse, angezeigt erscheinen, sowohl an Hunden wie an Kaninchen wieder zu untersuchen, wie das Curare auf ihren Gaswechsel wirkt und ob tatsächlich zwischen diesen beiden Tierarten ein solcher Unterschied herrscht, wie es aus den Arbeiten von Zuntz und Röhrig sowie Pflüger einerseits und jenen von Frank und Voit andererseits hervorzugehen scheint. Das bezweckten die folgenden Versuche.

An Hunden waren diese Versuche relativ leicht ausführbar. Wir haben zuerst tracheotomierte Hunde gelehrt, stundenlang unter einer Decke ruhig zu liegen und durch die in die Trachea gebundene armierte Trendelenburgsche Kanüle und durch die zum Respirationsversuch verwendeten Ventile gleichmäßig und ruhig zu atmen. Die Trendelenburg-Kanüle kam nur zum Respirationsversuch in die Trachea. Durch Aufblasen des um sie angebrachten Gummiringes wurde ein Entweichen der Atmungsluft neben der Kanüle verhindert. Später haben wir auch Hunde benutzt, denen ohne weitere Vorbereitung zwei Stunden vor Beginn des Respirationsversuchs eine Glaskanüle in die Trachea eingeführt und die Trachea umbunden wurde, so daß gar keine Gefahr bestand, daß Luft eventuell verloren geht. Die meisten Hunde lagen auch schon beim ersten Versuch so ruhig, daß Gaswechselbestimmungen ausführbar waren.

Zu den Respirationsversuchen wurde die Zuntz-Geppertsche Methode benutzt. Die einzelnen Probeentnahmen dauerten 10 bis 15 Minuten. Nacheinander wurden zwei bis vier solche Analysen gemacht. Nun wurde der Hund durch Injektion von einprozentiger Curare- oder Curarillösung in die Vena jugularis gelähmt, bis die willkürlichen und die Atembewegungen ver-

Versuch 1.

Hund, Gewicht 5600 g. Auf ruhiges Liegen dressiert. Temperatur 38,8°. 6. XI. 1912.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	2306	12h 45′	7′ 16″	38,70	—		36	1,99	2,57	43,83	59,17	0,741	
2	2313	1h 12′	9′ 14″	—	—		39	1,94	2,53	43,00	58,40	0,736	
3	2090	1h 49′	9′ 52″	—	—		27	2,00	2,56	41,70	53,46	0,779	
4	2734	2h 45′	8′ 06″	—	—		40	1,56	2,13	40,24	58,18	0,692	
5	2325	3h 58′	9′ 12″	39,00 39,12	36,20 35,30	3h 47′ 1 ccm	21	1,92	2,55	42,69	59,29	0,720	
6	2469	4h 41′	8′ 38″	39,31 39,35	24,00 24,00	4h 35′ 1 ccm	—	1,88	2,38	44,27	58,74	0,754	
7	2475	5h 10′	8′ 34″	39,32 39,40	24,00 24,00	5h 00′ 1 ccm	—	1,86	2,48	44,06	61,28	0,719	
8	2629	6h 09′	7′ 50″	39,35 39,40	24,00 24,00	5h 30′ 1 ccm 5h 45′ 1 ccm	—	1,78	2,23	44,61	58,71	0,759	

Versuch 2.

Hund, Gewicht 6100 g. Temperatur 39,0°. Auf Ruhe dressiert, um 9h 10′ Glaskanüle in die Trachea eingebunden. 12. XI. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1641	10h 02′	9′ 49″	39,00	—		15 bis 21	2,81	3,59	44,68	58,91	0,759	
2	1602	10h 19′	10′ 00″	—	—		17	2,65	3,37	41,08	53,92	0,761	
3	1788	10h 39′	9′ 53″	—	—		19	2,67	3,16	46,18	56,50	0,817	
4	1620	11h 03′	9′ 56″	39,00	19,20		17	2,85	3,26	44,73	52,88	0,846	
5	1858	1h 33′	8′ 55″	38,72 38,80	34,50 33,50	11h 30′-12h 16′ 5,5 ccm 0,1%	21	2,48	2,82	44,55	52,36	0,851	
6	1935	4h 55′	8′ 40″	39,40 39,18	30,00 33,00	2h 22′ 1 ccm 4h 00′ 1 ccm 4h 30′ 1/2 ccm	—	2,33	2,73	43,52	52,79	0,824	
7	1935	5h 09′	9′ 06″	39,10 39,12	32,00 32,00	5h 20′ 1 ccm	—	2,31	2,75	43,13	53,14	0,812	
8	1887	5h 41′	9′ 15″	39,12 39,12	24,50 24,00		—	2,33	2,84	42,36	53,53	0,792	

Versuch 3.

Hund, Gewicht 5600 g. Auf Ruhe dressiert, um 9h 00′ Glaskanüle in die Trachea eingebunden. 13. XI. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	2154	10h 32′	9′ 06″	—	—		24	2,51	3,05	52,21	65,61	0,796	
2	2138	10h 50′	7′ 53″	—	—		24	2,35	2,80	49,45	59,78	0,827	
3	2012	11h 08′	7′ 52″	—	—		24	2,48	3,06	48,21	61,65	0,782	
4	2411	11h 41′	7′ 57″	39,90	20,00		24	2,22	2,62	51,50	63,05	0,817	
5	2303	1h 45′	12′ 31″	39,75 40,25	35,00 33,00	12h 20′–1h 36′ 7,5 ccm 0,1%	26	2,27	2,65	50,37	60,96	0,826	
6	2317	2h 09′	12′ 51″	40,30 40,05	32,50 30,50		—	2,36	2,60	52,73	60,33	0,874	
7	2321	2h 34′	12′ 22″	39,90 39,95	31,30 32,00	2h 00′ 1/2 ccm	—	2,35	2,70	52,62	62,71	0,839	
8	2355	3h 13′	12′ 33″	39,88 39,60	25,00 30,10	2h 47′ 1/2 ccm 3h 02′ 1 ccm	—	2,26	2,70	51,32	63,66	0,806	

Versuch 4.

Kaninchen, 3100 g. Tracheotomiert und mit Ventilen verbunden 9h 20′. 11. XI. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1207	10h 53′	13′ 26″	—	—		56	2,13	2,60	24,68	30,15	0,818	
2	1056	11h 16′	15′ 32″	—	—		50	2,19	3,00	22,19	31,63	0,701	
3	1158	11h 41′	13′ 45″	39,80	20,50		45	1,97	2,57	21,82	29,81	0,731	
4	1196	12h 58′	13′ 46″	39,40 39,40	32,00 31,60	12h 30′ 2 ccm 0,1%	30	1,85	2,57	21,12	30,74	0,687	
5	1198	1h 26′	13′ 57″	39,30 39,25	31,60 31,80	12h 45′ 1 ccm	—	1,76	2,36	20,05	28,28	0,709	
6	1204	1h 54′	13′ 28″	39,70 39,80	35,00 34,00		—	1,94	2,50	22,29	30,15	0,739	

Versuch 5.

Kaninchen, Gewicht 2000 g. Tracheotomiert um 9^h 10′, mit Ventilen verbunden 9^h 30′. 22. X. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1160	10^h 53′	17′ 10″	39,10	—		140	1,11	1,68	11,87	19,48	0,609	
2	1156	11^h 15′	17′ 30″	—	—		142	1,31	1,78	14,11	20,54	0,687	
3	1411	11^h 40′	14′ 52″	39,50	—		170	1,06	1,42	13,80	20,09	0,687	
4	1139	12^h 46′	18′ 50″	39,80 39,75	30,20 29,50	12^h 13′ 0,5 ccm 12^h 15′ 1 ccm	30	1,46	2,13	15,19	21,85	0,644	
5	1111	1^h 23′	18′ 56″	39,80 39,81	29,50 29,00	12^h 39′ 1 ccm 1^h 12′ 1 ccm	—	1,47	1,99	15,40	22,09	0,697	
6	1103	1^h 48′	17′ 38″	39,79 39,70	28,80 28,60	1^h 13′ 1 ccm 2^h 8′ 2,5 ccm	—	1,34	1,75	13,83	19,35	0,715	
7	1059	4^h 47′	19′ 47″	39,06 38,80	29,00 29,50	4^h 30′ 1 ccm 5^h 40′ 1 ccm	—	1,26	1,76	12,49	18,66	0,669	

Versuch 6.

Kaninchen, Gewicht 2900 g. Tracheotomiert um 9^h 10′, mit Ventilen verbunden 9^h 22′. 20. X. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1429	10^h 11′	15′ 00″	—	—		139	1,19	1,94	17,00	27,72	0,613	
2	1335	10^h 44′	16′ 25″	39,50	—		123	1,47	2,22	18,17	29,60	0,614	
3	1315	12^h 07′	16′ 27″	39,50	37,00	12^h 30′ 1 ccm 12^h 55′ 1 ccm	30	1,52	2,07	18,87	27,22	0,693	
4	1334	12^h 38′	16′ 21″	39,50 39,20	30,00 28,00		—	1,32	2,00	17,62	26,61	0,662	
5	1326	1^h 11′	15′ 58″	39,80 39,95	36,00 34,00		—	1,32	1,90	17,55	25,23	0,695	Herzschwäche

Versuch 7.

Kaninchen, Gewicht 1700 g. Tracheotomiert und mit Ventilen verbunden 9ʰ 20′. 11. XI. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	824	10ʰ 31′	18′ 16″	—	—		58	1,59	2,15	12,38	17,68	0,700	Im Kasten sitzend.
2	681	10ʰ 56′	22′ 49″	—	—		67	1,63	2,11	10,54	13,42	0,785	
3	830	11ʰ 33′	18′ 03″	37,20	—		62	1,70	1,98	14,13	16,40	0,861	
4	1101	12ʰ 13′	13′ 56″	36,90	29,00		100	1,32	1,59	13,64	17,52	0,779	Aufgebunden.
5	975	12ʰ 45′	17′ 04″	36,80	33,00		88	1,31	1,63	11,99	15,93	0,752	
6	864	1ʰ 56′	17′ 48″	36,50 36,90	37,00 33,00	1ʰ 20′–1ʰ 30′ 1,5 ccm 0,1%	30	1,56	1,63	12,77	14,09	0,906	Curarisiert.
7	876	2ʰ 29′	19′ 27″	36,80 36,72	33,00 33,00	2ʰ 22′ ½ ccm 3ʰ 10′ ½ ccm	—	1,41	1,33	11,62	11,62	1,000	
8	859	3ʰ 24′	18′ 10″	36,70 36,70	33,00 34,00		—	1,32	1,31	10,62	11,21	0,947	5ʰ 50′ getötet.

Versuch 8.

Kaninchen, Gewicht 2700 g. Tracheotomiert und mit Ventilen verbunden 9ʰ 25′. 8. X. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Temperatur des Kastens °C	Curare	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1700	10ʰ 20′	12′ 20″	38,60	—		116	1,58	1,91	20,54	32,54	0,631	
2	1825	10ʰ 44′	12′ 20″	—	—		126	1,28	1,73	21,88	31,65	0,692	
3	1904	11ʰ 08′	11′ 21″	38,40	—		128	1,22	1,71	21,66	32,46	0,666	
4	1254	12ʰ 30′	13′ 20″	38,41 38,40	32,20 32,00	12ʰ 45′ 1 ccm 0,5%	30	1,51	1,85	17,92	23,22	0,771	
5	1248	1ʰ 06′	13′ 50″	38,37 38,38	32,80 33,00	11ʰ 20′ ½ ccm	—	1,40	1,72	16,36	21,42	0,764	Stirbt spontan 1ʰ 39′.

Versuch 9.

Kaninchen, Gewicht 1400 g. Zimmertemperatur 21,5°. Barometerstand 754 mm. 19. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R.O.	Atemzüge pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 55′	12′ 51″	1301	0,84	1,33	10,92	17,29	631	160	—	Unruhige, rasche Atmung.
2	10h 20′	17′ 37″	905	1,01	1,48	9,10	13,42	678	94 118	—	
3	11h 03′	18′ 21″	860	1,16	1,68	9,93	14,41	689	82	39,00	
4	12h 27′	19′ 59″	784	1,92	1,21	7,19	9,49	757	30	38,80 38,70	{ 11h 40′ 2 ccm Curaril intravenös { 12h 18′ 3/4 " " " Stirbt um 1h 00′.

Generaltabelle I.

Mittelwerte aus Versuch 9.

Versuch Nr.	Körpergewicht g	Vor der Curarevergiftung: O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Vor der Curarevergiftung: CO_2-Produktion pro Minute ccm	Vor der Curarevergiftung: R. Q.	Nach der Curarevergiftung: O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Nach der Curarevergiftung: CO_2-Produktion pro Minute ccm	Nach der Curarevergiftung: R. Q.	Änderung des CO_2-Verbrauches %	Änderung der CO_2-Abgabe %
				Versuche an Hunden					
1	5600	57,3	42,2	0,737	59,5	43,9	0,737	+ 3,9	+ 4,0
2	6100	54,4	43,0	0,790	53,3	34,4	0,819	— 2,7	+ 0,9
3	5600	61,5	49,7	0,809	61,9	51,8	0,836	+ 0,7	+ 4,2
				Versuche an Kaninchen					
4	3100	30,5	22,6	0,739	29,7	21,1	0,712	— 2,5	— 6,6
5	2000	20,0	13,3	0,661	20,5	14,2	0,694	+ 2,5	+ 6,8
6	2900	28,7	17,6	0,613	26,3	18,0	0,684	— 8,4	+ 2,3
7	1700	16,2	12,5	0,773	12,3	11,7	0,951	— 24,0	— 6,4
8	2700	32,2	21,3	0,661	22,3	17,1	0,767	— 30,7	— 19,7
9	1400	13,9	9,6	0,688	9,5	7,2	0,758	— 31,6	— 25,0

schwanden. Gleichzeitig wurde künstliche Atmung mittels der H. H. Meyerschen Pumpe eingeleitet und durch diese die Atmungsluft zum Respirationsapparat geführt. Dann kam das Tier zwecks Konstanthaltung seiner Temperatur, die beständig im Rectum gemessen wurde, in einen Thermostaten. Der Blutdruck wurde von der A. carotis aus mittels Hürthleschen Manometers registriert. So folgten dann wieder mehrere Analysen. Im allgemeinen entsprach diese Methodik ganz der in der früher erwähnten Arbeit veröffentlichten „Curaremethode“.

Bedeutend schwieriger waren die Versuche mit Kaninchen ausführbar. Diese Tiere lassen sich auf ausgestrecktes Liegen nicht dressieren. Nach vielen Versuchen gelangten wir endlich dazu, die folgende Methode zu benutzen. Den Kaninchen wurde ohne Narkose eine Kanüle in die Trachea gebunden und diese mittels Gummischläuchen durch ein Atmungsventil mit der Gasuhr verbunden. Die Tiere blieben nun relativ ruhig, wenn man sie in der natürlichen Hockstellung in eine kleine Kiste gibt, wo sie sich nicht umdrehen können. Am besten ist, sie noch mit einem Tuch zuzudecken. Trotzdem gab es auch so noch Tiere, die durchaus nicht ruhig zu halten waren. Deshalb haben auch diese Kaninchenversuche keine so gleichmäßigen Resultate gehabt wie die Hundeversuche. Es wurde auch in diesen Versuchen genau darauf geachtet, daß die Temperatur der Tiere konstant bleibe, was auch hier im Rectum kontrolliert wurde. Nach einigen Normalversuchen folgte Curarisierung und Gaswechseluntersuchung ebenso wie bei den Hunden. In Tabelle I bis IX sind alle diese Versuche ausführlich wiedergegeben. Es wurden außerdem für die Perioden vor und nach der Curarisierung die Mittelwerte aus allen einzelnen Probeanalysen berechnet. In Generaltabelle I sind diese Mittelwerte zusammengestellt.

„Die Versuche an Hunden bestätigen vor allem die Angabe von Frank und Voit, insofern sie keinen Zweifel darüber bestehen lassen, daß der Gaswechsel des mit Curare vergifteten Tieres nicht geringer ist wie jener des ruhig liegenden Tieres. Die Lähmung der motorischen Nervenendigungen vermindert also weder den Sauerstoffverbrauch noch die Kohlensäurebildung. Meine Versuche beweisen also auch, daß beim Hund kein chemischer Reflextonus existiert. Jene Unterschiede, die sich

nach der Curarisierung zeigen, fallen noch in die Grenzen der Versuchsfehler.

Bei Kaninchen sind die Resultate nicht so einfach. Wie ich schon erwähnt habe, ist es außerordentlich schwierig, diese Tiere vor der Curarisierung in solcher vollkommenen Ruhe zu halten wie die Hunde. Selbst die ruhig sitzenden bewegen bald den Kopf, bald die Ohren. Nachdem aber Muskelbewegungen in hohem Grade den Gaswechsel erhöhen, so beeinflussen schon diese kleinen Bewegungen in bemerkbarem Grade den Gaswechsel. Je häufiger und je intensiver das Tier diese Bewegungen ausgeführt hat, um so größer sind die Werte des Gaswechsels, und um so größere Abnahme wird im Gaswechsel die Curarevergiftung verursachen, weil sie die motorischen Nervenendigungen lähmt.

Der Gaswechsel der ersten drei Kaninchen zeigt nach Vergiftung mit Curare nur Änderungen innerhalb der Versuchsfehler, während bei den anderen drei Kaninchen eine recht beträchtliche Abnahme stattfindet. Diese waren die unruhigen Tiere. Diese Versuche beweisen aber zweifellos, daß, je mehr bei den Tieren vollständige Muskelruhe erzielt wird, um so geringer die Abnahme nach der Curarevergiftung wirkt, so daß also, wie aus den ersten zwei Kaninchenversuchen hervorgeht, auch bei diesen Tieren dasselbe Resultat erreichbar ist wie bei den Hunden.

Die zwei verschiedenen Tierarten verhalten sich also dem Wesen nach gleichmäßig, und deshalb müssen wir folgern, daß beim vollständig ruhig sitzenden Kaninchen ebensowenig ein chemischer Reflextonus der Muskulatur vorhanden ist wie in der Muskulatur des ruhig liegenden Hundes.

Meine Versuche geben gleichzeitig eine Erklärung dafür, warum Pflüger in seinen Versuchen eine so große Abnahme nach Curarevergiftung bekam. Er spannte die Kaninchen auf einen Operationstisch aus, wobei die Muskeln jedenfalls zu Contractionen gereizt werden, und so ist es natürlich, daß dann die Curarevergiftung einen größeren Ausfall verursachen muß.

Durch diese meine Versuche hat die Lehre vom chemischen Reflextonus der Muskeln ganz ihre Grundlage verloren, denn jetzt gibt es keinen einzigen Versuch mehr, auf Grund dessen

man auf die Existenz eines solchen Tonus folgern könnte[1]). Das hat seine Bedeutung bei der sogenannten chemischen Regulation der Körpertemperatur. Wenn die Temperatur der Umgebung unter einen gewissen Minimalwert sinkt (kritische Temperatur), erhöht sich die Wärmeproduktion der Warmblüter. Diese Zunahme wird von manchen (z. B. Rubner) mit Zunahme des chemischen Tonus erklärt. Andere (Loewy, Johannson) führen die Zunahme der Wärmeproduktion auf Muskelbewegungen zurück. Meine Versuche stützen die letztere Auffassung“ [2]).

Zur Kontrolle dieser Curareversuche und um zu sehen, inwiefern auch Narkotica den Gaswechsel beeinflussen bzw. eventuell auch zu Respirationsversuchen an Stelle des Curare verwendet werden könnten, wurden dann noch Versuche mit Morphin, Urethan und Chloreton ausgeführt.

Morphinversuche.

v. Böck und Bauer[3]) hatten mit Morphin eine beträchtliche Herabsetzung der Kohlensäureproduktion und der Sauerstoffaufnahme beim Hunde beobachtet. Bei Katzen dagegen fanden sie eine Steigerung des Gaswechsels, was mit der erregenden Wirkung des Morphins bei diesem Tiere erklärt werden kann.

Nach Fubini[4]) zeigen Hunde und Kaninchen sowie Meerschweinchen nach Morphininjektion eine starke, bei ersterem eine 50%ige Abnahme der Kohlensäureproduktion; bei Tauben war keine Änderung, bei Ratten eine Zunahme zu konstatieren.

Dreser[5]) und andere[6]) hatten an Kaninchen und Katzen entsprechende Resultate, insbesondere auch mit dem Morphinderivate Heroin.

Die eigenen Versuche mit Morphin wurden an 5 auf

---

[1]) Die Versuche von Mansfeld über chemischen Reflextonus, der auf dem Wege des Sympathicus aufrechterhalten wird, sind erst nach dieser Publikation Prof. Tangls erschienen. Verzár.

[2]) „Wörtliche Übersetzung des Schlusses der kurzgefaßten ungarischen Mitteilung von Prof. Tangl“ (l. c.).

[3]) v. Boeck u. Bauer, Zeitschr. f. Biol. 10.

[4]) Fubini, Moleschotts Unters. 1881.

[5]) Dreser, Arch. f. d. ges. Phys. 72.

[6]) Litt. s. b. Heinz, Handb. d. exp. Path. u. Pharm. 2, 1, 550.

Versuch 10.

Hund, Gewicht 7800 g. Zimmertemperatur 19,5°.
Barometerstand 755 mm. 22. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	11h 43′	11′ 32″	1419	3,24	4,69	46,0	66,6	0,690	15	—	—	Öfters unruhig.
2	12h 03′	11′ 53″	1478	3,41	4,72	50,4	69,7	0,723	13 16	—	—	12h 2′ eine Streckbewegung, sonst sehr ruhig.
3	12h 30′	11′ 49″	1468	3,25	4,58	47,8	67,3	0,710	13	60 65 60	39,5	Ruhig.
4	1h 15′	15′ 05″	1119	3,34	5,10	37,4	57,1	0,656	12 12	48 52	38,0	12h 53′ 2 ccm 4%ige Morphin. hydrochlor.-Lösung subcutan. (Lösung eine Woche alt.) Einwärtsgedrehte Augen. Schläft. Reflexe vorhanden.
5	2h 18′	13′ 53″	1195	3,32	4,90	39,6	58,5	0,677	15	51 50	37,5	
6	4h 13′	8′ 32″	2014	1,96	2,85	39,4	57,4	0,686	31 32	47	37,6	Ist schon nicht mehr so tief betäubt.
7	5h 29′	8′ 45″	1979	2,07	2,95	41,0	58,4	0,703	38	45 45	37,3	Vorderfüße manchmal krampfhaft gestreckt.

Versuch 11.

Hund, Gewicht 7250 g. Zimmertemperatur 21,5°.
Barometerstand 759 mm. 26. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	11h 08′	14′ 45″	1100	3,88	5,32	42,63	58,56	0,728	8 8	—	—	11h 19′ streckt sich, darauf einigemal Brechbewegung.
2	11h 43′	14′ 56″	984	3,82	5,79	37,62	56,95	0,661	8 5	[illegible] —	38,8	Gegen Ende des Versuches etwas unruhig.
3	1h 21′	13′ 49″	1096	4,06	5,65	44,48	61,88	0,719	16 16	48	38,5	12h 17′ bekommt 7 ccm 4%ige Morphin. hydrochlor.-Lösung subcutan
4	2h 19′	8′ 41″	2321	2,83	3,64	65,61	84,39	0,778	69 52 40	43 43	38,4	Tiefer Schlaf. Fast kein Cornealreflex
5	3h 25′	11′ 00″	1855	2,22	2,96	41,20	54,89	0,751	35	42	38,0	
6	5h 31′	10′ 54″	2086	1,87	2,92	39,03	60,95	0,640	90	40	37,6	

Versuch 12.

Hund, Gewicht 6000 g. 27. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	1h 52′	21′ 25″	980	2,94	4,46	28,9	43,7	0,660	17 17	58 62	38,7	Absolute Ruhe.
2	2h 30′	20′ 07″	1019	2,96	4,15	31,9	44,8	0,713	16 15	64	38,8	Absolute Ruhe.
3	3h 08′	19′ 43″	1091	2,94	4,14	32,1	45,2	0,711	16 18 16	65 68	39,0	Ruhe.
4	4h 16′	27′ 58″	773	4,67	6,27	34,5	48,5	0,712	17 14 16	45 48	39,1	3h 43′ bekommt 6 ccm 4%ige Morphin. hydrochlor.-Lösung subcutan. Betäubt.
5	5h 22′	5′ 37″	3459	1,24	1,74	42,9	60,3	0,711	—	58 55	39,1	Desgl.
6	6h 19′	13′ 14″	1640	1,94	2,68	31,9	43,9	0,726	67 49 54	50 49	38,5	Auf Berührung hebt er den Kopf. Starker Cornealreflex. Ist zwar sehr betäubt, läuft aber wie im Schlaf, wenn freigelassen, im Zimmer herum.

ruhiges Liegen dressierten Hunden ausgeführt. Die Hunde erhielten, nachdem der Ruhegaswechsel bestimmt war, pro kg Körpergewicht 1 bis 4 bis 8 cg Morphin subcutan. Bekanntlich sind zur Betäubung von Hunden viel größere Morphindosen nötig als beim Menschen.

Diese 5 Versuchsreihen gaben recht widersprechende Resultate, die jedoch zur Genüge zeigen, daß Morphin zum Narkotisieren von Hunden zwecks Ruhigstellung bei Respirationsversuchen zur Erreichung von konstanten Werten ungeeignet ist.

In Versuch 10 sanken, wie man sieht, in der Narkose die Werte um ca. 20%. In Versuch 11 und 12 wechseln normale Werte mit solchen, die um 5 bis 40% höher sind als die Normalwerte. Die Atmung in den verschiedenen Perioden nach der Morphinisierung ist sehr unregelmäßig, und die Steigerung des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäureproduktion fällt zusammen mit der starken Zunahme der Ventilation bzw. der

Versuch 13.

Hund, Gewicht 6100 g. Zimmertemperatur 19,9°.
Barometerstand 752,8 mm. 24. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	12h 15′	21′ 09″	807	3,77	5,46	30,42	44,04	0,692	13 13 12,5	67 71	38,6	12h 6′ und 8′ streckt sich. Sonst sehr ruhig.
2	12h 30′	23′ 25″	767	4,02	5,72	30,78	43,82	0,703	10 11 14	58 56	38,6	Sehr ruhig.
3	1h 09′	19′ 42″	788	4,05	5,55	31,86	43,71	0,729	13 12 12	64 65	38,6	1h 17′ streckt sich. Sonst sehr ruhig
4	1h 57′	21′ 25″	790	4,19	6,02	33,11	47,50	0,697	13 14	55 55	38,7	1h 36′ bekommt 1,5 ccm 4%ige Morphin.hydrochlor.-Lösung subcutan. Betäubt.
5	2h 57′	8′ 47″	1896	2,33	3,52	44,11	66,78	0,660	62 90	53 54	38,9	Schnelle Atmung, auch wenn die Kanüle entfernt wird.
6	3h 39′	13′ 28″	2257	2,00	2,40	45,19	54,24	0,833	68 59	54 55	38,5	Eine Kopfbewegung, sonst ruhig.
7	4h 47′	5′ 54″	4763	1,57	1,98	74,59	94,45	0,789	247 252	—	39,6	
8	5h 44′	9′ 15″	3035	1,84	2,65	55,94	80,49	0,695	173	57	38,5	Hebt manchmal den Kopf; ist am Erwachen.

Atemarbeit. In Versuch 13 und 14 endlich ist nur eine Steigerung des Gaswechsels zu bemerken, die in Versuch 13 gelegentlich bis zu 120% und in Versuch 14 bis 20% beträgt, wobei ebenfalls die Atemarbeit vermehrt ist.

Während diese unregelmäßigen Werte zur Genüge zeigen, daß Morphin in kurzfristigen Respirationsversuchen bei Hunden nicht verwendet werden kann, weil es keine konstanten Werte gibt, bleibt eine andere Frage, wie man diese Steigerungen zu erklären hat. Die Versuchsprotokolle zeigen genügend, daß häufig eine Zunahme der Ventilation eintritt. Nach von Böck und Bauer tritt beim Hunde bei kleinen und mittleren Dosen Atmungsverlangsamung ein. Dagegen tritt auf große Dosen bzw. im Stadium der Spätwirkung des Morphins, in welchen auch

Versuch 14.

Hund, Gewicht 6350 g. Zimmertemperatur 20,8°.
Barometerstand 753 mm. 28. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 38′	18′ 40″	747	3,45	5,31	25,8	39,7	0,650	7 6	—	—	Absolute Ruhe.
2	10h 50′	19′ 46″	792	3,50	5,04	27,7	40,0	0,695	6 6	—	—	Absolute Ruhe.
3	10h 38′	17′ 53″	863	3,26	4,61	28,1	39,8	0,707	6 6	76 76	38,00	10h 36′ sehr schwache Streckbewegung; 10h 44′ 2 bis 3 unruhige Atemzüge.
4	11h 45′	12′ 53″	1263	2,59	3,93	32,8	49,7	0,659	17 27	67	38,00	11h 02′ 6 ccm frische 4%ige Morphium-HCl-Lösung subcutan. Betäubt. Pupillenreflex. Auf Berührung wird der Kopf gehoben.
5	1h 18′	5′ 24″	3095	1,14	1,62	35,2	50,1	0,705	420 150	76	38,05	1h 00′ rasche Atmung, die sich nicht ändert, wenn die Kanüle entfernt wird. 1h 37′ neuerdings 6 ccm Morphin.
6	2h 22′	8′ 41″	2579	1,34	1,87	34,4	48,1	0,718	150	72	37,50	Streckt sich manchmal Nach dem Versuch frei auf den Boden gestellt, läuft er einige Schritte und fällt dann zusammen.

Reflexüberregbarkeit und sogenannte tetanische Anfälle beobachtet werden, ein Wiederansteigen der Atemgröße auf. Bei Anwendung solcher Morphindosen, die eine stundenlange Narkose bewirken sollen, mußte man in dieses Stadium der Reflexüberregbarkeit gelangen, wobei dann, wie aus den Protokollen ersichtlich ist, sowohl die Zunahme der Atmung, als auch die erwähnten tetanischen Streckungen der Extremitäten beobachtet wurden, was natürlich zu einer großen Steigerung des Gaswechsels führen mußte.

Urethanversuche.

Respirationsversuche an mit Urethan narkotisierten Kaninchen hat bereits Porges[1]) ausgeführt. Auch er benutzte das Urethan, um die Tiere in gleichmäßiger Ruhe zu halten.

[1]) Porges, diese Zeitschr. 27, 131, 1911.

Versuch 15.

Kaninchen, Gewicht 1800 g. Temperatur 38,7°. Zimmertemperatur 22,5°. Barometerstand 753 mm. 21. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 05′	17′ 12″	887	1,27	2,02	11,26	17,92	0,628	110	—	38,7	
2	9h 37′	17′ 29″	893	1,47	2,28	13,10	20,33	0,644	55	—	—	9h 42′ unruhig.
3	10h 13′	11′ 32″	1429	0,96	1,34	13,69	19,16	0,714	160	—	38,9	
4	11h 18′	18′ 18″	913	1,27	1,91	11,61	17,47	0,665	66	—	38,9	Schläft. Schwacher Cornealreflex. 10h 30′ 30 ccm, 11h 0′ 10 ccm 10%iges Urethan subcutan.
5	11h 47′	18′ 07″	793	1,26	1,92	9,95	15,26	0,652	117 bis82	—	—	} Tiefer Schlaf. Kein Cornealreflex.
6	12h 20′	19′ 54″	768	1,21	1,85	9,29	14,20	0,654	88	—	38,6	
7	3h 09′	17′ 35″	841	1,26	1,83	10,60	15,42	0,687	30	—	39,1 39,4	2h 8′ 1 1/2 ccm Curaril. 3h 5′ 1/2 " "
8	3h 37′	18, 34″	840	1,25	1,75	10,52	14,70	0,716	30	—	39,2 39,2	3h 32′ 1 " " 3h 48′ 1 " " } Künstliche Atmung.
9	4h 13′	18′ 34″	827	1,26	1,95	10,41	16,11	0,646	30	—	38,9 39,2	4h 6′ 1 " "

Versuch 16.

Hund II, Gewicht 6100 g. Zimmertemperatur 24°. Barometerstand 757 mm. 2. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 48′	20′ 00″	819	3,79	4,75	31,03	38,90	0,798	11 11	—	—	
2	10h 17′	17′ 26″	883	3,78	4,58	33,40	40,47	0,825	11	—	—	
3	10h 48′	16′ 27″	903	3,76	4,57	33,95	41,27	0,823	11	65	38,3	
4	12h 50′	10′ 18″	1554	2,60	3,10	40,37	48,16	0,838	31	—	—	11h 10′ 10 ccm Urethan (25%) subcut. 12h 0′ 10 " " " 1h 15′ 5 " " " Betäubt, aber unruhig.
5	1h 33′	8′ 52″	1814	2,09	2,51	37,89	45,55	0,832	40	120	38,7	Betäubt, schwache Bewegungen der Fußmuskeln. Um 2h so große Unruhe, daß der Versuch nicht fortgesetzt werden kann.

Versuch 17.

Hund, Gewicht 6910 g. Zimmertemperatur 25,5°. Barometerstand 756,5 mm. 5. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 26′	16′ 38″	852	3,83	5,98	32,26	51,0	0,640	10 10	—	—	Außer 1 bis 2 kleinen Streckbewegungen sehr ruhig.
2	9h 52′	14′ 38″	966	3,96	5,65	38,30	54,6	0,701	10 10	60	39,5	
3	11h 03′	14′ 36″	1047	3,73	5,08	39,10	53,1	0,734	16 16	176	39,0	10h 35′ 2,6 g Chloreton in 5 ccm Olivenöl + Gummi arabic. - Emulsion in ca. 100 ccm Wasser mit Magensonde. 10h 56′ Schlaf tief. Keine Reflexe.
4	12h 03′	12′ 18″	1223	3,22	4,28	39,40	52,3	0,752	18 18	100	38,5	
5	7h 47′	9′ 43″	2192	1,93	2,58	42,30	56,5	0,748	17	144	38,9 39,1	12h 42′ 1 ccm Curaril intrav. 12h 44′ 1 „ „ „ 1h 0′ 1 „ „ „ } Künstliche Atmung.
6	2h 11′	10′ 24″	2055	2,07	2,78	42,50	57,1	0,745	17	144	39,3 39,3	1h 4′ 1 „ „ „ 2h 0′ 1,5 „ „ „ } Künstliche Atmung.

Jedoch sind keine Angaben vorhanden, welchen Einfluß das Urethan gegenüber den normalen Werten hat.

Versuch 15 ist an einem Kaninchen so ausgeführt, daß zuerst am ruhigen, wachen Tier mehrere Analysen gemacht wurden, dann wurde subcutan Urethan injiziert, die Werte in der Urethanperiode sind etwas niedriger als die Wachwerte. Dann wurde intravenös Curare gegeben und künstliche Atmung eingeleitet. Gegenüber der Urethanperiode zeigte sich keine nennenswerte Änderung. Letzteres beweist auch, daß das Curare außer der Lähmung und ihren Folgen keine andere Herabsetzung des Gaswechsels bewirkte und daß andererseits derselbe Grad von Immobilisierung beim Kaninchen auch mit Urethan erreicht werden kann. Allerdings muß hervorgehoben werden, daß in der Curareperiode die Werte am konstantesten sind.

Anders verlief Versuch 16 an einem Hund. Trotzdem Urethan hier Benommenheit verursachte, folgten dennoch

Versuch 18.

Hund, Gewicht 6200 g. Zimmertemperatur 24,2°. Barometerstand 755 mm. 7. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 47′	8′ 26″	2006	2,10	2,73	42,13	54,76	0,769	40 60	120	39,70	Streckt sich 1 bis 2 mal.
2	10h 07′	8′ 38″	1957	2,07	2,83	40,51	55,38	0,733	40 68	120	39,60	Sehr ruhig.
3	10h 38′	8′ 46″	1848	2,14	3,07	39,55	56,73	0,697	46 46	—	39,80	Streckt sich einmal.
4	12h 49′	6′ 29″	2488	1,57	2,09	39,06	52,00	0,751	109 112	168	39,20	10h 10′ 2,4 g Chloreton in ca. 5 ccm Olivenöl-Gummi arabic.-Emulsion.
5	1h 11′	8′ 10″	2738	1,48	2,03	40,52	55,58	0,729	128	160	39,20	Tiefer Schlaf.
6	2h 55′	6′ 56″	3070	1,57	1,88	48,20	57,72	0,835	130 120	160	39,30	4h 10′ Cornealreflex. Beginnt zu erwachen.
7	4h 50′	10′ 49″	2047	2,13	2,40	43,60	49,03	0,891	27	154	39,22 39,48	4h 30′ 2 ccm Curaril intrav. 4h 34′ 1 " " "
8	5h 20′	10′ 46″	2094	1,96	2,12	41,04	44,39	0,924	28	159	39,50 39,40	4h 40′ 1 " " " 4h 48′ 1 " " "
9	5h 46′	10′ 26″	2044	1,88	2,41	38,93	49,28	0,780	27	—	39,20 39,20	5h 4′ 1 " " " 5h 35′ 1 " " "
10	6h 57′	10′ 08″	2220	1,79	2,27	39,26	50,35	0,790	27	156	39,20	6h 53′ 1 "

(Anmerkungen zu Nr. 7–10: Künstliche Atmung.)

zeitweilig unruhige Bewegungen, die zur Folge hatten, daß die Werte des Gaswechsels in der Urethanperiode höher lagen als in den Ruheperioden und auch unregelmäßiger waren. Wie man sieht, war auch die Atemarbeit in der Urethanperiode gesteigert.

Es scheint also, daß während Urethan bei Kaninchen zur Erreichung konstanter Werte bei Respirationsversuchen gut verwendet werden könnte, es sich bei Hunden nicht bewährt.

Chloretonversuche.

Besonders für Hundeversuche sollte deshalb nach einem anderen Narkoticum gesucht werden. Als solches wählten wir Chloreton (Parke, Davis & Co.), das sich als ein recht entsprechendes Narkoticum erwies, um bei Hunden vollständige

Versuch 19.

Hund, Gewicht 6000 g. Zimmertemperatur 23,4°. Barometerstand 755 mm. 11. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	$9^h 20'$	17′ 54′,	835	3,70 3,56	5,12 5,06	30,05 29,76	42,79 42,27	0,722 0,704	12 13	—	39,00	Sehr ruhig. Um $9^h 42'$ sehr schwache Fußbewegung.
2	$10^h 01'$	19′ 19″	793	3,67	5,34	29,13	42,35	0,688	12 10	—	—	Sehr ruhig.
3	$10^h 29'$	17′ 22″	905	3,65	5,18	33,06	46,84	0,706	12 12	—	38,80	$10^h 30'$ kleine Fußbewegung. $10^h 41'$ „ „ Sonst sehr ruhig.
4	$11^h 20'$	14′ 37″	1517	2,65	3,95	40,17	59,91	0,671	18	—	38,55	$11^h 0'$ 2 g Chloreton + 5 ccm Olivenöl. $11^h 13'$ Schläft.
5	$11^h 48'$	12′ 11″	1286	2,53	3,13	32,52	40,20	0,809	26 28	159	38,50	
6	$12^h 12'$	11′ 54″	1414	2,55	2,99	36,09	42,22	0,854	28	—	38,91	Kaum merkbarer Cornealreflex.
7	$1^h 33'$	15′ 15″	1834	2,03	2,39	37,23	43,85	0,849	20	168	38,90 38,90	$12^h 32'$ 1 ccm Curaril intrav. $12^h 34'$ 1 „ „ „ (Künstliche Atmung)
8	$2^h 02'$	15′ 21″	1823	1,90	2,32	34,58	42,28	0,818	21	170	38,80 38,80	$12^h 40'$ 1 „ „ „ $1^h 22'$ 1 „ „ „ (Künstliche Atmung)
9	$2^h 31'$	15′ 09″	1811	1,91	2,37	34,55	42,92	0,805	21	174	38,70 38,95	$1^h 52'$ 1 „ „ „ $2^h 21'$ 1 „ „ „ (Künstliche Atmung)

Muskelruhe und ziemlich gleichmäßige Respirationswerte zu bekommen.

Es wurden 4 Versuche an Hunden ausgeführt. In Versuch 17, 18, 19 wurde zuerst die Respiration des auf ruhiges Liegen dressierten Hundes bestimmt. Dann wurde mittels Magensonde so viel Chloreton gegeben, daß eine gute Narkose eintrat. Diese Narkose äußert sich in einem ruhigen, gleichmäßigen Schlaf. Der Cornealreflex ist dabei erloschen, die Atmung ist gleichmäßig, spontane Bewegungen treten nicht ein. Nach einer Chloretonperiode wurde dann das Tier intravenös mit Curaril vergiftet und künstliche Atmung eingeführt, um zu sehen, ob nach der durch das Chloreton bedingten vollständigen Muskelruhe dennoch ein Ausfall im Gaswechsel eintritt, wenn nach der Curaresierung der „Muskeltonus" fortfällt. Aus diesem, sowie aus Versuch 20, in dem keine Curare-

Versuch 20.

Hund, Gewicht 6400 g. Temperatur 38,3°. Zimmertemperatur 22,5°.
Barometerstand 755 mm. 31. V. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	9h 27′	13′ 17″	1202	3,01	3,76	36,16	45,24	0,799	15 14	—	—	30′ streckt sich.
2	9h 50′	11′ 57″	1189	2,85	4,12	33,90	48,93	0,692	21 13	—	—	Röchelt.
3	10h 37′	17′ 10″	984	3,03	4,38	29,79	43,13	0,691	18 17 17 16	74 75	38,1	Ruhig.
4	12h 06′	20′ 05″	809	3,34	4,49	27,05	36,29	0,745	12 10	160	37,8	11h 8′ 5 g Chloreton + 50 ccm Olivenöl mit Magensonde. 11h 35′ betäubt. Während des Versuchs sehr tiefer Schlaf. Augen einwärts gedreht, geschlossen. Selten Streckbewegungen.
5	1h 11′	15′ 30″	959	3,12	3,82	29,95	36,05	0,816	12 14 15	160	—	Gleich nach Vers. 4 von 12h 30′ bis 12h 45′ krampfartige, wilde Bewegungen bei voller Bewußtlosigkeit. Dann wieder tiefe Ruhe. Um 2h 25′ wieder Unruhe Rhythmische Gehbewegungen mit den Füßen.
6	3h 04′	16′ 26″	984	2,66	3,50	26,21	34,48	0,760	17 16	152	36,6	
7	4h 08′	12′ 54″	1165	2,55	3,15	29,68	36,66	0,810	20	150	37,6	3h 35′ bis 48′ Gehbewegungen mit den Vorderfüßen. Tiefer Schlaf.
8	5h 41′	18′ 06″	1178	2,60	3,08	30,59	36,28	0,843	18	140	37,6	Sehr tiefer Schlaf.

periode folgte, geht hervor, daß Chloreton recht konstante Werte des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäurebildung ergibt. Wie aus Generaltabelle II, in der die Mittelwerte aus diesen Chloretonversuchen berechnet sind, ersichtlich ist, fand in der Chloretonperiode zweimal eine geringe Steigerung, einmal eine Abnahme und einmal innerhalb der Versuchsfehler ein Konstantbleiben der Werte statt. Vergleicht man die Curareperiode mit der Normalperiode, so ergibt sich in dem Versuch 17, in dem auch das Chloreton eine Steigerung verursachte, auch in der Curareperiode eine Steigerung, die jedenfalls als Chloretonwirkung aufzufassen ist. Andererseits hat in Versuch 18 und 19 in der Curareperiode gegenüber der

Versuch 21.

Kaninchen, Gewicht 1900 g. Zimmertemperatur 19°. Barometerstand 760 mm. 17. VI. 1913.

Nummer	Zeit	Dauer des Versuches	Atemvolumen pro Minute	CO_2-Zunahme %	O_2-Abnahme %	CO_2-Produktion pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	R. Q.	Atemzüge pro Minute	Pulse pro Minute	Temperatur °C	Anmerkungen
1	10h 14′	10′ 37″	1414	1,08	1,33	15,30	18,75	0,815	90	—	—	
2	10h 35′	15′ 05″	1032	1,19	1,75	12,31	18,03	0,681	90	—	—	
3	11h 07′	21′ 21″	680	1,45	2,18	9,84	14,84	0,663	52 60	—	—	
4	11h 39′	22′ 19″	644	1,52	2,09	9,77	13,47	0,725	50	—	37,2	
5	12h 47′	52′ 16″	305	2,15	3,68	6,57	11,23	0,585	29	—	—	12h 10′ 1,6 g Chloreton + 5 ccm Olivenöl. Cornealreflex vorhanden.
6	3h 50′	23′ 51″	595	1,39	2,15	8,24	12,77	0,645	36	—	—	Cornealreflex. Nackenmuskeln etwas gespannt. Narkose ist nicht tief.
7	4h 24′	25′ 49″	557	1,58	2,22	8,82	12,39	0,712	34	—	—	
8	5h 46′	14′ 57″	1083	0,94	1,19	10,18	12,84	0,793	28	—	35,3 35,7	5h 2′ 1 ccm Curaril. Künstliche Atmung. 5h 38′ 1/2 ccm Curaril.
9	6h 13′	14′ 44″	1097	0,86	1,10	9,42	12,11	0,779	28	—	36,0 36,1	
10	6h 48′	14′ 25″	1097	0,80	1,10	8,77	12,06	0,734	28	—	35,9 35,7	
11	8h 28′	13′ 59″	1071	0,89	1,16	9,53	12,40	0,776	28	—	37,5 36,8	

Chloretonperiode eine Abnahme, insbesondere des Sauerstoffverbrauchs stattgefunden. In Versuch 20, in dem so viel Chloreton gegeben wurde, daß bereits Vergiftungserscheinungen wie Krämpfe auftraten, nahm sowohl der Sauerstoffverbrauch, als auch die Kohlensäurebildung ab.

Wenn also auch zugegeben werden muß, daß an mit Chloreton narkotisierten Hunden ziemlich konstante Werte zu erhalten sind, so ist andererseits doch ersichtlich, daß die Werte durchaus nicht eine so weitgehende Übereinstimmung mit den Normalwerten zeigen, wie bei jenen Tieren, die nur mit Curare vergiftet wurden. Auch hier ist es z. B. in Versuch 19 auffallend, daß nach Vergiftung mit Curare immerhin die gleichmäßigsten Werte erhalten werden.

Ebenso zeigten auch zwei Versuche an Kaninchen, (Nr. 21, 22)

Versuch 22.

Kaninchen, Gewicht 2200 g. 15. VI. 1913.

Nummer	Ventilation pro Minute ccm	Zeit	Dauer des Versuches	Temperatur des Tieres °C	Curaril	Atemzüge pro Minute	CO_2 %	O_2 %	CO_2 pro Minute ccm	O_2 pro Minute ccm	R. Q.	Anmerkungen
1	1134	10h 26′	14′ 21″	—	—	102	1,26	2,05	14,28	23,21	0,615	
2	1100	10h 51′	14′ 05″	—	—	112	1,39	1,93	15,33	21,21	0,723	
3	1434	11h 45′	11′ 19″	—	—	144	1,19	1,42	17,05	20,38	0,837	
4	1298	12h 11′	12′ 43″	36,60	—	140	1,15	1,53	14,88	19,79	0,750	
5	722	4h 40′	23′ 04″	—	—	60	1,70	2,47	12,21	17,83	0,685	4h 45′ 2½ g Chloreton +5 ccm Olivenöl. Enge Pupillen. Kein Cornealreflex. Tiefe Narkose.
6	766	5h 09′	21′ 30″	—	—	44	1,72	2,53	13,16	19,34	0,681	
7	700	5h 44′	22′ 49″	37,20	—	50	1,69	2,42	11,83	16,94	0,699	
8	626	6h 47′	25′ 35″	37,60 37,80	6h 15′ 1 ccm 6h 20′ ½ „	20	2,00	2,63	12,49	16,45	0,759	
9	849	7h 19′	17′ 15″	37,70 37,75	6h 41′ 1 „ 7h 13′ 1 „	26	1,77	2,15	15,44	18,22	0,846	
10	836	7h 50′	17′ 05″	38,00 38,20		27	1,67	2,39	13,93	19,96	0,698	
11	849	8h 15′	17′ 47″	38,10 37,80	8h 9′ 1 ccm	26	1,60	2,10	13,59	17,84	0,762	

General-Tabelle II.

Mittelwerte aus Versuch 17 bis 22.

Versuchs-Nummer	Körpergewicht	Normal			Chloreton-Narkose			Curare-Vergiftung			Differenz zwischen Normal und Chloreton-Periode		Differenz zwischen Normal und Curare-Periode	
	g	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Bildung pro Minute ccm	R. Q.	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Bildung pro Minute ccm	R. Q.	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Bildung pro Minute ccm	R. Q.	O_2-Verbrauch %	CO_2-Bildung %	O_2-Verbrauch %	CO_2-Bildung %
							Versuche an Hunden.							
17	6910	52,8	35,3	0,670	54,2	39,3	0,726	57,9	42,4	0,732	+ 2,7	+ 11,3	+ 9,7	+ 20,1
18	6200	55,6	40,7	0,732	55,1	42,6	0,771	48,3	40,7	0,843	— 0,9	+ 4,7	— 13,2	—
19	6000	43,6	30,7	0,704	47,3	36,3	0,768	43,0	35,4	0,823	+ 8,5	+ 18,2	— 1,4	+ 15,3
20	6400	44,3	33,3	0,751	36,0	28,7	0,797	—	—	—	— 18,7	— 13,8	—	—
							Versuche an Kaninchen.							
21	1900	16,3	11,8	0,723	12,1	7,9	0,651	12,4	9,5	0,765	— 25,8	— 33,0	— 24,0	— 19,5
22	2200	21,2	15,4	0,731	18,0	12,4	0,688	18,1	13,9	0,760	— 15,1	— 19,4	— 14,6	— 9,7

die mit Chloreton narkotisiert wurden, sehr konstante Werte in der Chloretonperiode. Die Werte liegen allerdings bedeutend niedriger als die Normalwerte, was aber jedenfalls auf den Fortfall der in der Normalperiode vorhandenen Unruhe der Tiere bzw. der durch willkürliche Contraction ihrer Muskulatur aufrecht erhaltenen Hockstellung zurückzuführen ist. Daß es keinen durch Curare zum Verschwinden zu bringenden, mit Sauerstoffverbrauch einhergehenden chemischen Tonus gibt, läßt sich in diesen Versuchen so zeigen, daß, wenn in der Narkose die willkürliche Contraction aufgehört hatte, die jetzt folgende Curarisierung keinen weiteren Ausfall im Gaswechsel bewirkte. Das ist ebenfalls aus der Generaltabelle II zu ersehen.

Es ergab sich also, daß man sowohl beim Hund als auch beim Kaninchen, wenn man durch Curare die Muskeln lähmt, wenn das Tier vorher in vollständiger Ruhe war, keinen Ausfall im Gaswechsel erhält. Demnach kann man, wenn man durch Curarisierung die motorische Innervation der quergestreiften Muskulatur aufhebt, keinen chemischen Tonus nachweisen.

Es zeigte sich auch, daß insbesondere bei Kaninchen, bei denen je nach den älteren Untersuchungen ein solcher chemischer Tonus besonders bestehen soll, keine Abnahme des Gaswechsels eintritt, wenn vorher die Tiere durch ein Narkoticum ganz beruhigt waren.

In praktischer Beziehung, für die Technik von Respirationsversuchen, ergibt sich aus diesen Versuchen in Bestätigung jener von Frank und Voit, daß Curare beim Hunde keine Abnahme des Gaswechsels verursacht, und daß dasselbe auch bei Kaninchen bei vollständiger Muskelruhe der Fall ist. An curarisierten Tieren erhaltene Werte des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäurebildung sind also Normalwerten bei vollständiger Muskelruhe gleichzusetzen.

Von den geprüften Narkotica scheint das Morphin zur Verwendung in Respirationsversuchen ganz ungeeignet zu sein Urethan scheint sich bei Kaninchen gut, bei Hunden jedoch nicht zu bewähren. Chloreton ergab sowohl bei Hunden, als auch bei Kaninchen ziemlich konstante Werte. Wenn man Curare nicht verwenden will, so wäre Chloreton wohl am meisten zu empfehlen.

Aber allen diesen gegenüber hat das Curare sowohl in der Hinsicht auf die Konstanz und Promptheit sowie Eindeutigkeit seiner Wirkung, als auch in seiner Fähigkeit, den Normalwerten entsprechende und viele Stunden lang gleichmäßige Werte des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäurebildung sowohl bei Hunden als Kaninchen aufrecht zu erhalten, weitaus den Vorrang.

Ergänzende Bemerkungen über die Mikrobestimmung des Traubenzuckers. II.

Von

Ivar Bang.

(Eingegangen am 28. August 1918.)

In der früheren Publikation mit Dr. Hatlehoel zusammen[1]) ist ein Verfahren zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mitgeteilt, nach dem die besonders von Ege[2]) hervorgehobenen Fehlerquellen der früheren Mikromethode überwunden sind. Diese Fehlerquellen sind teils von einer ungleichmäßigen Erhitzung, von der Kochzeit, von dem Gummischlauch (dies kommt doch nach meiner Erfahrung nur bei Verwendung von „Kriegsgummi" vor) und von der Titration bedingt. Allerdings bedeuten diese Fehlerquellen zusammen nicht viel, und das Verfahren ist in seiner ursprünglichen Form für praktische und auch die meisten wissenschaftlichen Zwecke durchaus brauchbar, besonders wenn man dafür Sorge trägt, daß die CO_2-Zufuhr eine reichliche ist. Immerhin erfordert doch das Verfahren eine gewisse Übung und Vorsicht bei der Ausführung. Durch Einführung der Jodatmethode und des indirekten Kochens ist aber das Verfahren bedeutend einfacher und auch genauer geworden.

Bei der praktischen Arbeit mit dieser neuen Methode hat es sich aber merkwürdigerweise erwiesen, daß die Jodatlösung nicht unverändert haltbar ist. Zwar wird nach Ansäuern und Zusatz von Jodkalium die theoretische Jodmenge entwickelt, nichtdestoweniger wird nach und nach das Kupferoxydul nicht mehr von der Jodsäure oxydiert. Man bekommt schließlich

[1]) Diese Zeitschr. 87, 264, 1918.

[2]) Ebenda 87, 1918.

dieselbe Jodmenge wie ohne Gegenwart von Kupferoxydul. (Das Prinzip der Methode ist, daß das Oxydul von der Jodsäure nach Ansäuern mit Schwefelsäure oxydiert wird. Nach Zusatz von Jodkalium wird dann eine dementsprechend geringere Quantität Jod entwickelt.) Die Jodsäure, die als Jodat vorkommt, ist offenbar in eine andere Modifikation übergegangen. Von einer Bildung von Überjodsäure ist aber, wie Versuche zeigten, keine Rede. Diese Frage muß ich also offenstehen lassen. Wichtiger ist, wie man diese Schwierigkeit überwinden soll. Die erste Forderung ist, daß das Kaliumjodat ganz rein sein soll. Es wird am besten aus Jodkalium und Permanganat selbst bereitet. Zweitens hat es sich herausgestellt, daß die freie Jodsäure als Lösung jedenfalls zwei Monate lang unverändert haltbar ist. Man braucht deshalb statt der Jodatlösung nur eine saure Lösung vorrätig zu haben.

Die Lösung wird folgendermaßen bereitet: 0,3567 g Kaliumjodat sowie 10 ccm 20%iger Schwefelsäure werden in einen 1-l-Kolben übergeführt. Man kann auch das Kupfersulfat hierzu setzen, und zwar 2,5 g $CuSO_4 + 5 H_2O$. Nach Ergänzung bis zu 1 l ist die Lösung fertig. Für jede Analyse werden genau 2 ccm in einen 125-ccm-Erlenmeyerkolben abgemessen. Zudem kommt die gewöhnliche alte Salzlösung (13 ccm) sowie 2 ccm der Alkalilösung (75 g Kaliumkarbonat und 20 g Seignettesalz pro Liter). Der Kolben wird nun 4 Minuten lang mittels heißen Wasserdampfes nach dem Prinzip der Mikrokjeldahlmethode erhitzt. Hier hat es sich vorteilhaft erwiesen, die Folinsche Vorrichtung für NH_2-Bestimmung einzuführen. Von dem Kochkolben geht der Wasserdampf durch ein gebogenes Glasröhrchen in den Erlenmeyerkolben. Das Glasrohr ist unten kugelförmig aufgeblasen und die Kugel mit 5 bis 6 kleinen Löchern versehen, wodurch der Wasserdampf entweicht. Dadurch wird jedes Spritzen verhindert. Während des Erhitzens steht der Erlenmeyerkolben auf einem stellbaren Stative (wie für die Mikrokjeldahldestillation vorgeschrieben). Nach dem Erhitzen während 4 Minuten setzt man 2 ccm Schwefelsäure von 20% hinzu, senkt das Stativ und spritzt mit der Spritzflasche das Glasrohr ab. Man entfernt das Stativ, nimmt den Kolben weg und setzt einen neuen unter. Das Stativ wird untergestellt, entsprechend erhöht, und die neue Reduktion fängt an. Der

Stopfen des Kochkolbens[1]) ist folglich nicht wie früher mit einem Seitenrohr versehen, wodurch der Wasserdampf abgeleitet werden kann. Nach dem Stehen während mindestens 5 Minuten kühlt man den Erlenmeyerkolben ab, setzt ca. 25 ccm Wasser und 0,5 ccm bis 2 ccm 5⁰/₀iger JK-Lösung sowie Stärkelösung hinzu und titriert mit $^{n}/_{100}$-Thiosulfatlösung, bis Umschlag ins Farblose erfolgt.

Man kann auch nach Belieben die Jodsäure mit der Schwefelsäure zusammen zuletzt zusetzen. Hat man eine — am besten saure — $^{n}/_{10}$-Jodatlösung vorrätig, so verdünnt man 10 bis 20 ccm davon mit 20$^{0}/_{0}$iger Schwefelsäure bis $^{1}/_{100}$ Normalität und setzt genau 2 ccm dieser Lösung nach dem Erhitzen des Erlenmeyerkolbens während 4 Minuten hinzu. Hat man in diesem Falle auch das Kupfersulfat (80 mg für 2 l) der Uranyl-Salzlösung zugesetzt, kommt man mit einer Abmessung weniger zum Ziel.

Willstätter und Schüchl[2]) haben erst neulich eine außerordentlich einfache und genaue jodometrische Zuckerbestimmungsmethode veröffentlicht. In der Hoffnung, daß dieselbe für die Blutzuckerbestimmung verwendet werden könnte, habe ich versucht, das Verfahren auch für die Bestimmung von Zuckermengen von 0,10 bis 0,50 mg anzupassen, was auch tatsächlich gelang. Nur ist eine ganz bestimmte geringe Alkalisäure erforderlich. Leider haben aber die einschlägigen Versuche mit Blut erwiesen, daß das Verfahren zu diesem Zwecke vollständig unbrauchbar ist. So wurden z. B. statt 0,107$^{0}/_{0}$ Blutzucker 0,22$^{0}/_{0}$ und 0,23$^{0}/_{0}$ gefunden. Es kommen also andere Stoffe in reichlicher Menge vor, die auch von Hypojodit angegriffen werden.

[1]) Nur Korkstopfen darf verwendet werden.
[2]) Ber. 51, 180, 1918.

Der toxikologische Nachweis des Physostigmins.

Von

H. Fühner.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 5. September 1918.)

Mit 5 Figuren im Text.

Die bisher für den Nachweis des Physostigmins bekannt gewordenen chemischen Identitätsreaktionen sind nicht sehr empfindlich: Zur Ausführung der wichtigsten Färbungsreaktion, die in aufeinanderfolgender Rot- und Blaufärbung beim Eindampfen mit Ammoniak besteht (Bildung von Rubreserin und Physostigminblau) sind nach Gadamer[1]) mindestens $^5/_{100}$ mg reiner Substanz nötig. Darum wird heute auch in den Lehrbüchern der chemischen Toxikologie darauf hingewiesen, daß zur Charakterisierung des Physostigmins in erster Linie der empfindlichere Tierversuch anzustellen sei, und zwar nach Gadamer in der Weise, daß man eine möglichst neutrale Lösung des Alkaloidrückstandes in den Conjunctivalsack einer Katze einbringt. Bei Gegenwart von Physostigmin tritt Pupillenverengerung ein. Dazu bemerkt der Verfasser: „Läßt diese Reaktion im Stich, so dürfte Physostigmin auch nicht mehr auf chemischem Wege nachweisbar sein.“

Die Empfindlichkeit des Katzenauges für Physostigmin ist hier nicht angegeben, und auch anderweitig kann ich darüber keine genauen Angaben finden. Jedenfalls ist das Auge gegenüber der pupillenverengernden Wirkung des Physostigmins viel weniger empfindlich als gegenüber der entgegengesetzten Wir-

---

[1]) J. Gadamer, Lehrb. d. chem. Toxikologie. Göttingen 1909, 569.

kung von Atropin und Scopolamin. Ich fand am empfindlichen Katzenauge eine Stunde nach Einbringen eines Tropfens Physostigminsulfatlösung 1 : 20 000 (also etwa $^{2}/_{1000}$ mg) eine Spur Pupillendifferenz. Deutlich wurde die Wirkung durch einen Tropfen einer Lösung 1 : 10 000 ($^{5}/_{1000}$ mg). Ein Tropfen einer Lösung 1 : 5000 ($^{1}/_{100}$ mg) ergab nach einer halben Stunde deutliche, nach einer Stunde starke, aber längst nicht maximale Pupillenverengerung. Hiernach scheint die Empfindlichkeit des Katzenauges für Physostigmin eine ähnliche zu sein wie die des Menschenauges: Nach Jaarsma[1]) soll an diesem eine Physostigminlösung 1 : 12 800 die schwächste sein, auf die noch eine Verengerung an der Pupille zu beobachten ist.

Auf Grund der Pupillenreaktion am Katzenauge können demnach Physostigminmengen von etwa $^{5}/_{1000}$ bis $^{1}/_{100}$ mg nachgewiesen werden. Jedenfalls war es in Vergiftungsfällen bisher nicht möglich, Mengen unter den genannten mit einiger Sicherheit zu erkennen. Bei der großen Allgemeingiftigkeit des Physostigmins und seiner durchaus nicht seltenen medizinischen Verwendung als Mittel bei Lähmungszuständen von glatter und quergestreifter Muskulatur neben seinem täglichen Gebrauch in der Augenheilkunde dürfte es aber nicht unerwünscht sein, bei vorkommenden Vergiftungsfällen über eine feinere Nachweismethode als die bisher genannten zu verfügen. Im nachstehenden ist darum eine biologische Methode beschrieben, die es gestattet, noch $^{1}/_{10\,000}$ mg des Giftes mit derselben Sicherheit nachzuweisen, wie sie der Pupillenreaktion für größere Mengen zukommt.

Diese biologische Nachweismethode basiert auf dem von mir aufgefundenen Synergismus Physostigmin-Acetylcholin, der sich namentlich gut an der glatten Muskulatur des Blutegels beobachten läßt, und darin besteht, daß die an sich geringe Empfindlichkeit der Blutegelmuskulatur gegenüber der contrahierenden Wirkung des Acetylcholins durch bestimmte kleinste Physostigminmengen außerordentlich gesteigert werden kann. Der toxikologische Physostigminnachweis würde sich hiernach in der folgenden Weise durchführen lassen:

---

[1]) Jaarsma, Dissertation, Leiden 1881, zit. nach L. Lewin und H. Guillery, Die Wirkung von Arzneimitteln und Giften auf das Auge. Berlin 1905, **1**, 457.

Zu der Prüfung nötig sind gesunde, gut bewegliche Blutegel (Hirudo s. Sanguisuga medicinalis), Tiere, die heute noch offizinell und demnach in den Apotheken vorrätig gehalten werden. Von Reagenzien ist Acetylcholinchlorhydrat (Kahlbaum) und Physostigminsulfat oder -salicylat (Merck) erforderlich. Als Apparate sind die von mir[1]) zum biologischen Nachweis von Giften angegebenen Stative und ein langsam gehendes Kymographion zur Aufzeichnung der Blutegelcontractionen empfehlenswert. Die Herstellung der Blutegelpräparate geschieht genau in der Weise, wie ich[2]) es vor kurzem an anderer Stelle beschrieben habe. Von einem Blutegel erhält man vier brauchbare Präparate: Zwei Mittelstücke, ein Kopf- und ein Schwanzstück. Die vier Stücke eines ersten Tieres verwendet man zur Prüfung der Acetylcholin- und Physostigminlösungen. Auch von einem zweiten Tiere dient ein Mittel- und Endstück zu Vorproben, um festzustellen, ob die verschiedenen Versuchstiere ähnlich auf Acetylcholin und Physostigmin reagieren. Die zwei weiteren Stücke des zweiten Tieres werden zur Prüfung der unbekannten Lösung gebraucht.

Die Lösungen für die Proben werden in froschisotonischer Ringerlösung hergestellt. Wenn es auch möglich ist, die Versuche an ungereinigten Organauszügen anzustellen, so ist es doch vorzuziehen, das Untersuchungsmaterial, entsprechend dem Gang der toxikologisch-chemischen Analyse, erst so weit zu reinigen, daß mit dem Rückstand chemische Identitätsreaktionen ausgeführt werden können. Es empfiehlt sich dann, den zu prüfenden Rückstand erst in etwas Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung aufzunehmen, ihn genau zu neutralisieren, wobei namentlich ein Säureüberschuß zu vermeiden ist, und dann am Katzenauge zu prüfen. Ob hier die Reaktion positiv oder negativ ausfällt, so empfiehlt es sich doch auf jeden Fall, noch die empfindlichere Probe am Blutegel anzustellen, die bei positivem Ausfall der Pupillenprobe eine wertvolle Bestätigung derselben bildet. Fallen Pupillen- und Blutegelreaktion

---

[1]) H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin u. Wien 1911, 62 u. 58.

[2]) H. Fühner, Ein Vorlesungsversuch zur Demonstration der erregbarkeitssteigernden Wirkung des Physostigmins. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 82, 82, 1917. Vgl. auch Nachweis . . . S. 46.

positiv aus, so sind die geprüften Lösungen nochmals auf Physostigmin zu verarbeiten, und dieser Rückstand wird dann chemisch geprüft. Zweckmäßig werden also die biologischen Proben, weil sie fast keine Substanz verbrauchen, vor den chemischen Proben ausgeführt.

Meine früher veröffentlichten Versuche am Blutegel sind in 50 ccm-Bechergläsern zumeist mit 40 ccm Flüssigkeit angestellt. Muß man mit möglichst wenig Material auskommen, so genügen in engeren Zylindern auch 20 ccm zu den Proben, wenn man die Aufhängungscapillare für das Blutegelstück entsprechend verkleinert.

Wie schon früher angegeben, sind die Blutegel, namentlich gegenüber Acetylcholinlösungen, verschieden empfindlich, während ich für das Physostigmin eine ziemliche Konstanz der Empfindlichkeit beobachtet habe.

Zum Physostigminnachweis verwendet man von vornherein Acetylcholinlösungen 1 : 100 000, wie dies auch in der hier wiedergegebenen Versuchsreihe geschah. Die gebrauchten Blutegel reagierten gegenüber dem Acetylcholin schwach. In der Kurve meiner erwähnten Arbeit war eine Lösung der Konzentration 1 : 1 000 000 wirksamer, als hier an drei verschiedenen Tieren die Lösung 1 : 100 000. Bewirkt Acetylcholin 1 : 100 000 sofort einen Anstieg, wie in der genannten Kurve, so läßt man nur 5 Minuten einwirken und wäscht mit Ringerlösung 5- bis 6 mal je 5 Minuten lang aus. Dann wechselt man die Ringerlösung gegen die Physostigminlösung um, läßt hier 10 bis 20 Minuten und versetzt dann diese Lösung mit genau derselben Menge starker Acetylcholinlösung, wie sie zur Herstellung der Verdünnung 1 : 100 000 diente. Während das Blutegelpräparat sich in der Acetylcholinlösung nur wenig, in der Physostigminlösung gar nicht contrahiert, erfolgt hier in der Mischung beider Substanzen ein stärkerer Anstieg des Schreibhebels. Man läßt 5 Minuten lang in der Mischung und wäscht dann wieder aus.

Enthält die Physostigminlösung die Substanz in einer Konzentration 1 : 1000 Millionen (1 Milliarde), also in 50 ccm die Menge von $^{5}/_{100\,000}$ mg, so findet, wie die Kurven von Fig. 1 und 2 zeigen, eine deutliche Verstärkung der Acetyl-

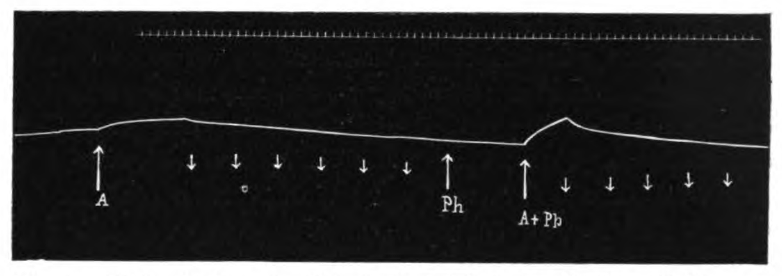


Fig. 1. Blutegelpräparat. Bei *A* Acetylcholin 1 : 100 000 10 Minuten. Dann 6 mal je 5 Minuten ausgewaschen. Bei *Ph* Physostigmin 1 : 1000 Millionen 10 Minuten. Bei *A* + *Ph* Mischung, enthaltend Acetylcholin 1 : 100 000, Physostigmin 1 : 1000 Millionen, 5 Minuten. Dann 5 mal je 5 Minuten ausgewaschen. Zeit = Minuten.

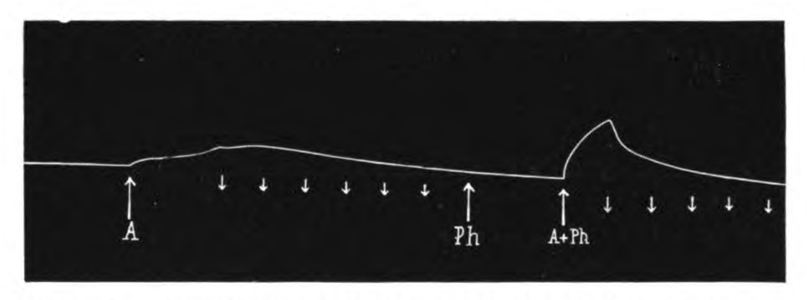


Fig. 2. Blutegelpräparat. Acetylcholin 1 : 100 000 10 Minuten. Physostigmin 1 : 1000 Millionen 10 Minuten. Mischung 5 Minuten.

cholinwirkung statt[1]). Bemerkt sei, wie aus den Kurven einer früheren Arbeit[2]) ersichtlich ist, daß Acetylcholin allein, wiederholt hintereinander an dem Blutegelpräparat gegeben, nicht etwa jedesmal stärker wirkt als vorher, wie solches z. B. bei Bariumchlorid der Fall ist, sondern daß die Wirkung bei jeder neuen Prüfung schwächer ausfällt. Kurve 1 zeigt eine geringfügige Verstärkung an dem Schwanzstück eines Tieres, Kurve 2 eine etwas stärkere Wirkung der

---

[1]) Wie in der erwähnten Arbeit bestand das Blutegelpräparat auch zu diesen Versuchen aus 10 Ringeln. Die Schreibhebelvergrößerung war eine zehnfache. Die Wiedergabe der Kurven im Text erfolgte in halber Größe der Originale.

[2]) H. Fühner, Untersuchungen über den Synergismus von Giften. IV. Die chemische Erregbarkeitssteigerung glatter Muskulatur. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 82, 56, 1917. Zur Barytwirkung vgl. S. 67.

Mischung an einem Blutegelmittelstück. Die Verstärkung in beiden Fällen wäre sicherlich bedeutender gewesen, wenn die Physostigmineinwirkung nicht nur 10, sondern 20 Minuten stattgefunden hätte. Kurve 2, 3 und 4 sind an demselben Tier aufgenommen. Kurve 3 zeigt die Wirkung von Physostigmin 1 : 100 Millionen an einem Schwanzstück, Kurve 4 die Wirkung derselben Konzentration an einem Mittelstück. Aus Kurve 3

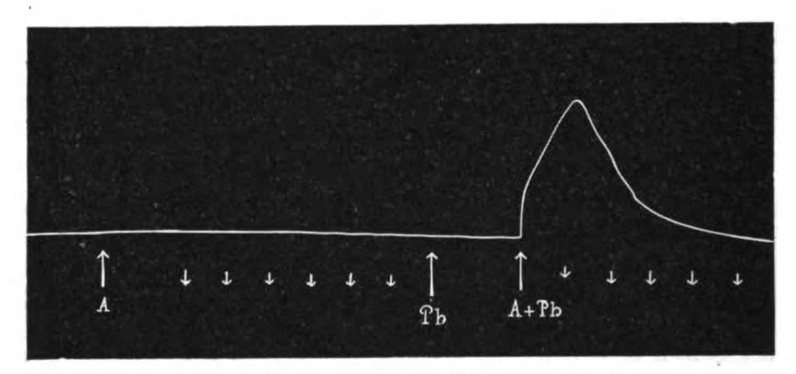


Fig. 3. Blutegelpräparat. Acetylcholin 1 : 100 000 10 Minuten. Physostigmin 1 : 100 Millionen 10 Minuten. Mischung 5 Minuten.

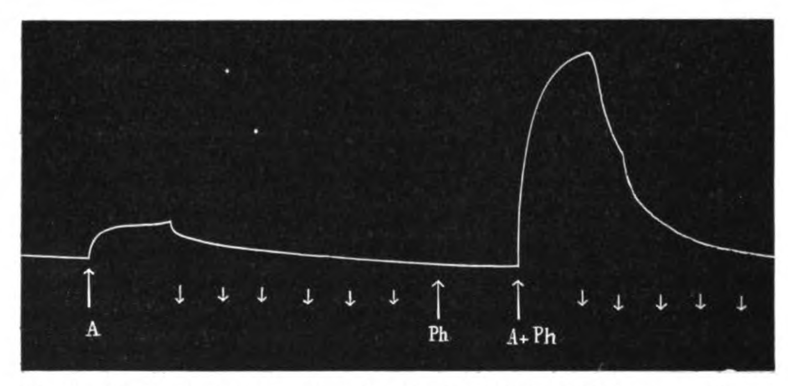


Fig. 4. Blutegelpräparat. Acetylcholin 1 : 100 000 10 Minuten. Physostigmin 1 : 100 Millionen 10 Minuten. Mischung 5 Minuten.

und 4 ist ersichtlich, wie die Stücke desselben Tieres unter sich etwas verschieden reagieren. Doch sind die Abweichungen für Acetylcholin-Physostigminmischung nie sehr bedeutend, so daß aus der Wirkungsstärke der Mischung ziemlich genaue

Rückschlüsse über die Konzentration einer Physostigminlösung gezogen werden können.

Mit einer Physostigminlösung unbekannter Konzentration wurde die Kurve der Fig. 5, entsprechend den 4 ersten Kurven, gewonnen. Die Konzentration dieser Lösung dürfte, ihrer Wirkung

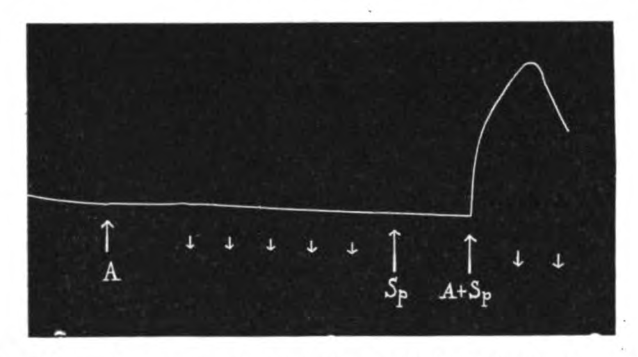


Fig. 5. Blutegelpräparat. Acetylcholin 1 : 100 000 10 Minuten. Physostigminhaltiger Speichel 10 Minuten. Mischung 5 Minuten.

nach, annähernd 1 : 100 Millionen betragen. Die Kurve, die der Kurve 3 auffallend ähnlich ist, wurde in der Weise gewonnen, daß hier der Speichel einer Katze zur Prüfung gelangte, welche vorher einen Tropfen einer 1 $^0/_0$igen Physostigminsulfatlösung in ein Auge erhalten hatte. Es wurde $^1/_2$ ccm Speichel aufgefangen und dieser mit Ringerlösung auf 50 ccm verdünnt. In einem Tropfen Physostigminlösung 1 : 100 bekam die Katze $^1/_2$ mg Physostigminsulfat ins Auge. Von der Physostigminlösung 1 : 100 Millionen enthalten 50 ccm $^5/_{10\,000}$ mg Physostigmin. Von den $^5/_{10}$ mg fanden sich demnach in diesem Versuche $^5/_{10\,000}$ mg, d. h. der tausendste Teil, in $^1/_2$ ccm Speichel wieder. Im Harn desselben Versuchstieres (der zur Prüfung allerdings mehrfach verdünnt werden mußte, da Katzenharn allein schon das Blutegelpräparat zur Contraction bringt) konnte, in gleicher Weise geprüft, von dem Physostigmin nichts aufgefunden werden.

Bemerkt sei, daß auch die stärkste Contraction in den vorliegenden Versuchen (Fig. 4) keine maximale ist. Sie entspricht nur etwa der halben möglichen Höhe. An empfindlichen Blutegelpräparaten können aber unter den angegebenen Bedingungen

schon Physostigminkonzentrationen von 1 : 100 Millionen maximale Zusammenziehung bewirken, wie dies aus Kurve 5 einer früheren Arbeit[1]) ersichtlich ist.

Bisher konnte keine Substanz aufgefunden werden, die imstande wäre, in ähnlicher Weise die Wirkung des Acetylcholins am Blutegelpräparat zu verstärken, wie das Physostigmin. Namentlich das dem Physostigmin als erregbarkeitssteigernde Substanz nahestehende Guanidin wirkt am Blutegel nicht entsprechend. Die Acetylcholinwirkung wird mäßig verstärkt durch Gegenwart freier Säure in den Lösungen, welche hier, wie bei jeder biologischen Prüfung, sorgfältig zu vermeiden ist.

Aus der Arbeit ergibt sich, daß durch Prüfung am Katzenauge die Menge von $^{5}/_{1000}$ bis $^{1}/_{100}$ mg Physostigmin biologisch nachweisbar ist. Dagegen kann am Blutegelpräparat auf Grund des Synergismus Physostigmin-Acetylcholin noch die Menge von $^{1}/_{10000}$ mg mit Sicherheit erkannt werden.

---

[1]) H. Fühner, Untersuchungen über den Synergismus von Giften, l. c. S. 57.

Die quantitative Bestimmung des Nicotins auf biologischem Wege.

Von

H. Führer.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 5. September 1918.)

Mit 3 Figuren im Text.

Eine quantitative Bestimmung des Nicotins auf biologischem Wege läßt sich, wie 1916 Storm van Leeuwen[1]) gezeigt hat, in der Weise ausführen, daß man an nach Sherrington decapitierten und mit Atropin vorbehandelten Katzen vergleichend die Blutdrucksteigerung durch bekannte und unbekannte Giftlösungen feststellt. Nachweisbar sind auf diesem Wege Mengen von $^1/_{10}$ mg Nicotin. Die Empfindlichkeit der Katzen gegenüber der blutdrucksteigernden Wirkung des Nicotins scheint aber weitgehend zu wechseln, so daß an manchem Tiere keine Bestimmung ausgeführt werden kann.

Das gilt nach meinen Erfahrungen auch für eine zweite Methode der biologischen Nicotinbestimmung am Warmblüter, die sich des isolierten Darmes als Reagens bedient. Eine solche wurde in einer kleinen Mitteilung von Hahn und Langer[2]) empfohlen, mit der Angabe, daß am überlebenden Kaninchendarm noch Nicotinverdünnungen von 1:3 Millionen wirksam sind. Wird der Versuch mit 150 ccm Tyrodelösung angestellt,

[1]) W. Storm van Leeuwen, Over het nicotinegehalte in den rook van zware-, lichte- en „nicotinevrije" sigaren. Geneeskundige Bladen uit Kliniek en Laboratorium Nr. 5, Haarlem **1916**. — Derselbe, Over physiologische Waardebepalingen. V. Pharmaceutisch Weekblad **1917**, Nr. 44.

[2]) Hahn und Langer, Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 104.

so wäre die kleinste nachzuweisende Nicotinmenge hierbei $^1/_{20}$ mg. Eine ausführliche Mitteilung der Genannten über diesen Gegenstand konnte ich nicht auffinden. Es handelt sich wohl um den Versuch einer Nicotindosierung derart, wie sie Neukirch[1]) für das Pilocarpin empfahl. Ich habe die Nicotinwirkung an zahlreichen Dünn- und Dickdarmstücken von Kaninchen und Katzen geprüft, dabei aber quantitativ außerordentlich wechselnde Ergebnisse erhalten. Manches Darmstück contrahierte sich kräftig auf $^1/_{10}$ mg Nicotin (in 150 ccm Lösung), andere Stücke nicht auf 1 mg und mehr. Was aber den Warmblüterdarm vor allem zu quantitativ vergleichenden Bestimmungen wenig geeignet macht, ist der Umstand, daß sich, selbst an erstmalig gut ansprechenden Stücken, nicht wiederholt gleichstarke Wirkungen durch gleiche Mengen hervorbringen lassen. Vielleicht gelingt dies bei besonders langer und sorgfältiger Auswaschung, etwa noch unter Alkoholzusatz. Eine Auswaschung, wie sie für das Pilocarpin ausreicht, um wiederholt nacheinander gleiche Wirkungen zu erhalten, genügt für das Nicotin keineswegs. Jedenfalls läßt sich das Nicotin nicht ohne weiteres in der einfachen Weise an Darmstücken quantitativ bestimmen, wie dies beim Pilocarpin, Cholinmuscarin und Acetylcholin der Fall ist. Möglicherweise haben die Genannten aber doch festgestellt, auf welchem Wege man gleichmäßige Resultate am Kaninchendarm bekommt und wie sich das Gift an Darmstücken quantitativ bestimmen läßt, und es erfolgt später eine ausführliche Mitteilung darüber.

Ich selbst habe davon abgesehen, eine solche Methode an Darmstücken auszuarbeiten, da mir die Verwendung von Warmblütern und ihren isolierten Organen zu biologischen Wertbestimmungen, wie ich[2]) andernorts ausgeführt habe, nur da am Platze erscheint, wo der Kaltblüter versagt, wie z. B. in der Wertbestimmung von Hypophysenextrakten. Reine Lösungen

[1]) P. Neukirch, Physiologische Wertbestimmung am Dünndarm. Arch. f. d. ges. Physiol. **147**, 153, 1912.

[2]) H. Fühner, Die quantitative Bestimmung des Cholins auf biologischem Wege. Diese Zeitschr. 77, 409, 1916. — H. Fühner und W. Straub, Sollen in das neue Arzneibuch pharmakologische Wertmessungen der Arzneimittel Aufnahme finden? Deutsche med. Wochenschr. **1918**, 1016.

von Nicotin lassen sich, worauf ich[1]) früher hinwies, an Fröschen und, wie hier gezeigt werden soll, besser an Blutegeln quantitativ bestimmen. Inwieweit sich allerdings zur Prüfung verunreinigter Nicotinlösungen, etwa zur Nicotinbestimmung im Tabaksrauch, der Warmblüterversuch besser eignet als die Bestimmung am Blutegel, müßte durch vergleichende Versuche festgestellt werden.

Zu einer Nicotinbestimmung am Frosch erschien mir[1]) früher der isolierte Mm. gastrocnemius von Wasserfröschen geeignet. Der frisch präparierte Muskel contrahiert sich in der Norm kräftig in einer Nicotinlösung 1 : 100 000, so daß bei Verwendung von 10 ccm Lösung $^1/_{10}$ mg des Giftes nachgewiesen werden kann. Doch fand ich neuerdings auf Nicotin derartig schlecht reagierende Tiere, auch nimmt die Nicotinempfindlichkeit des überlebenden Froschmuskels so rasch ab, daß ich das Objekt zum quantitativen Nicotinnachweis nicht besonders empfehlen kann.

Empfindlicher gegenüber Nicotin als die quergestreifte Muskulatur des Frosches und selbst 24 Stunden nach der Tötung des Tieres noch gut brauchbar ist die glatte Muskulatur des Blutegels, an der ich eine einfache Methode der quantitativen Nicotinbestimmung ausgearbeitet habe.

Die Eignung des von Nervencentren befreiten Blutegelpräparates für den qualitativen Nicotinnachweis habe ich[2]) schon früher hervorgehoben. Ich gab damals an, daß präparierte Blutegelstücke sich meist durch eine Nicotinsalzlösung der Konzentration 1 : 1 Million nicht oder nur sehr schwach und spät contrahieren, daß dagegen durch die Konzentration 1 : 500 000 regelmäßig langsame Zusammenziehung bewirkt wird. Dies entspricht auch meinen neueren Erfahrungen, ebenso wie die Tatsache, daß Nicotin sich aus dem Präparat meist nur schlecht wieder auswäscht. Trotzdem ist dasselbe zu vergleichenden quantitativen Nicotinbestimmungen brauchbar, wenn man das Gift einmal nur kurze Zeit einwirken läßt und es weiterhin mit alkoholhaltiger Ringerlösung auswäscht.

Im übrigen läßt sich die erwähnte Nicotinempfindlichkeit

[1]) H. Führer, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin, Wien 1911, S. 111.

[2]) H. Führer, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin, Wien 1911, S. 46.

des Präparates steigern durch wiederholte Einwirkung derselben Giftlösung, so daß man schließlich an den meisten Stücken der Versuchstiere durch die Konzentration 1 : 2 Millionen, an besonders empfindlichen durch 1 : 4 Millionen gute Contraction bekommt. Unter Verwendung von 20 bis 40 ccm Lösung lassen sich demnach hundertstel Milligramme Nicotin an diesem Objekt dosieren.

An einzelnen Versuchstieren wurden im Laufe eines Tages bis zu 12 vergleichende Vergiftungen hintereinander angestellt. Wie sich ein Präparat bei einer solchen 12 mal wiederholten Vergiftung in der Norm verhält, zeigt Fig. 1[1]), in der sämtliche, von Anfang bis zu Ende geprüften Nicotingaben nacheinander in ihrer Wirkung registriert sind bei langsamem Gang des Kymographions und jeweiliger Arretierung des Instrumentes beim Einbringen des Präparates in die Alkohollösung. In diesem Versuche wurden nur die beiden Nicotinlösungen 1 : 1 Million und 1 : 2 Millionen (möglichst neutralisierte Lösung von salzsaurem Nicotin mit Ringerlösung verdünnt) miteinander verglichen. Die vier ersten Kurvenanstiege zeigen eine viermalige Vergiftung mit Nicotin 1 : 1 Million. Die Kurven stiegen hierbei progressiv an bis zu einem bei der vierten Vergiftung erreichten Maximum. In der sechsten, achten, zehnten und zwölften Vergiftung mit derselben Giftlösung wurden die Contractionen abnehmend niedriger. Diese allmähliche Abnahme hinderte aber durchaus nicht die Vergleichung dieser Konzentration von 1 : 1 Million mit schwächeren Lösungen. Eine solche Vergleichung läßt sich zwar von Anfang an durchführen und gibt immer brauchbare Resultate; ich habe sie aber, wie hier, gewöhnlich erst nach der vierten Vergiftung angestellt, also zur Zeit, wo die maximale Empfindlichkeit des Präparates festgestellt ist. Bemerkenswert ist in den Kurven, wie stark sich Konzentrationsunterschiede der Nicotinlösungen an dem Blutegelpräparat geltend machen. Eine Nicotinlösung 1 : 2 Millionen, wie sie bei der fünften Vergiftung gegeben wurde, wirkt nicht einmal halb so stark wie die Konzentration 1 : 1 Million, und ein ähnliches Verhältnis zeigt sich bis zum Ende der Figur, wobei die beiden Lösungen abwechselnd angewandt wurden.

[1]) Die Kurven von Fig. 2 und 3 sind in halber Originalgröße wiedergegeben. Fig. 1 ist etwas stärker verkleinert.

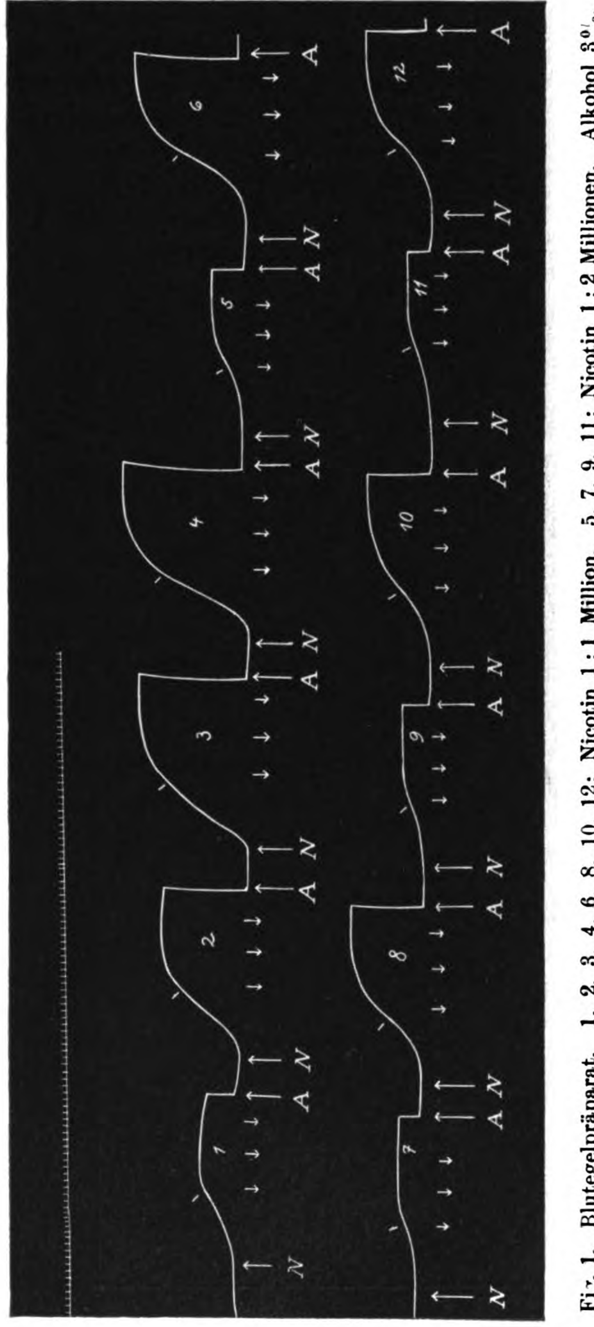


Fig. 1. Blutegelpräparat. 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12: Nicotin 1 : 1 Million. 5, 7, 9, 11: Nicotin 1 : 2 Millionen. Alkohol 3%. Zeit = Minuten.

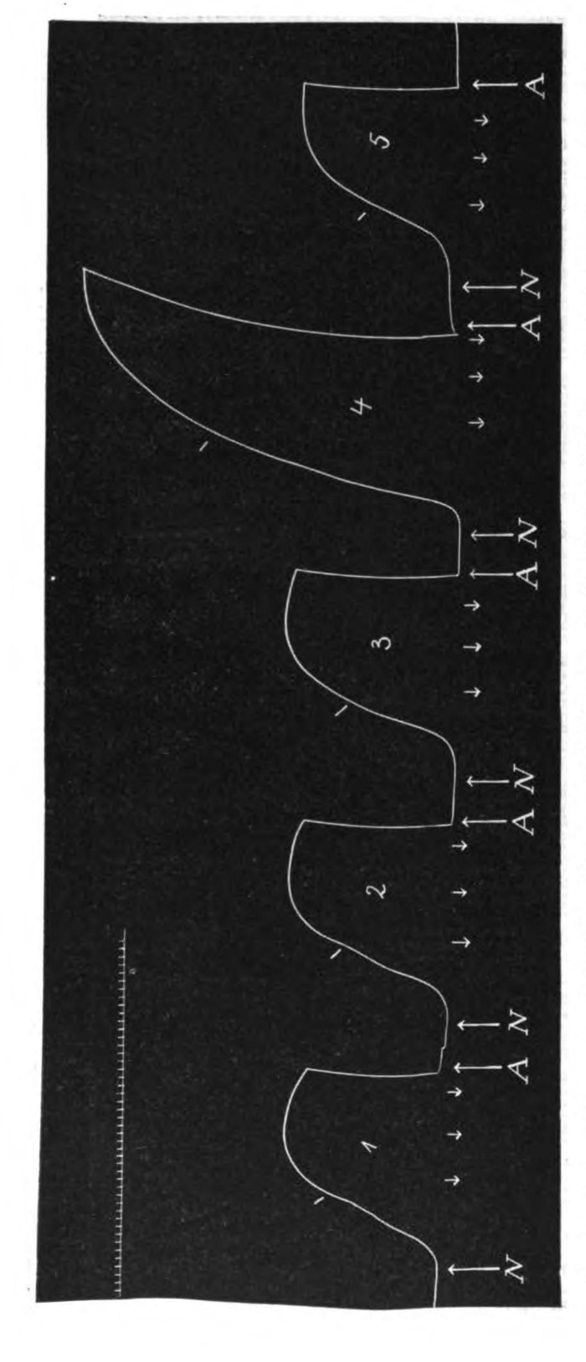


Fig. 2. Blutegelpräparat. 1, 2, 3, 5: Nicotin 1 : 2 Millionen. 4: Nicotin 1 : 1 Million. Alkohol 4%. Zeit = Minuten.

Bei derartig vergleichenden Versuchen empfiehlt es sich, die Nicotinlösung so weit zu verdünnen, daß die Kurven nicht höher werden wie hier in diesem ersten Versuch. Je höher der jeweilige Nicotinanstieg ausfällt, desto länger dauert naturgemäß das Auswaschen. Im übrigen lassen sich gute Vergleichungskurven gewinnen, auch wenn man hohe Anstiege registriert, wie z. B. in Fig. 2, die an einem empfindlichen Stück eines anderen Tieres aufgenommen wurde. Auch hier gelangte Nicotin 1 : 1 Million und 1 : 2 Millionen zur Verwendung. Bei stillstehendem Kymographion wurden in diesem Versuche erst zwei Vergiftungen mit Nicotin 1 : 1 Million und 1 : 2 Millionen angestellt. Die Figur zeigt die fünf folgenden Vergiftungen: 1, 2 3 und 5 mit Nicotin 1 : 2 Millionen und 4 mit 1 : 1 Million. Das Auswaschen geschah hier mit 4 $^0/_0$igem Alkohol; im Versuch 1 und 3 mit 3 $^0/_0$igem (3 ccm absoluter Alkohol Kahlbaum; 97 ccm Ringerlösung). In allen Versuchen dauerte die Nicotineinwirkung je 10 Minuten. Dann wurde das Präparat in Ringerlösung 3 mal je 5 Minuten ausgewaschen, wobei meist kaum ein Absinken der Kurve erfolgte, und darauf in den 3- oder 4 $^0/_0$igen Alkohol gebracht unter gleichzeitiger Stillstellung des Kymographions. In den Vergiftungen der Fig. 2 dauerte das Auswaschen mit Alkohol die ersten drei Male je etwa 5 Minuten. Das vierte Mal dagegen 20 Minuten und das fünfte Mal 15 Minuten. Die Alkoholauswaschung wurde jeweils so lange fortgesetzt, bis das Präparat wieder zur normalen Länge zurückgekehrt war. Bei noch stillstehendem Instrument wurde dann wieder 3 mal je 5 Minuten mit Ringerlösung ausgewaschen und darauf die Trommel von neuem zur folgenden Nicotinvergiftung in Gang gebracht. Bei diesem empfindlichen Blutegelstück der Fig. 2 wäre die vergleichende Prüfung am besten mit Konzentrationen 1 : 2 und 1 : 4 Millionen durchgeführt worden.

Fig. 3 zeigt einen Versuchsausschnitt an einem bedeutend weniger empfindlichen Präparat, gewonnen von einem Stück desselben Blutegels wie in Fig. 1. Die Kurve Fig. 1 wurde aufgenommen an dem Kopfstück des Tieres. Die Kurve der Fig. 3 wurde von seinem Schwanzstück und zwar in einem Parallelversuch an einem zweiten Kymographion aufgezeichnet. Da dieses Präparat bei der ersten Vergiftung mit Nicotin 1 : 1 Million

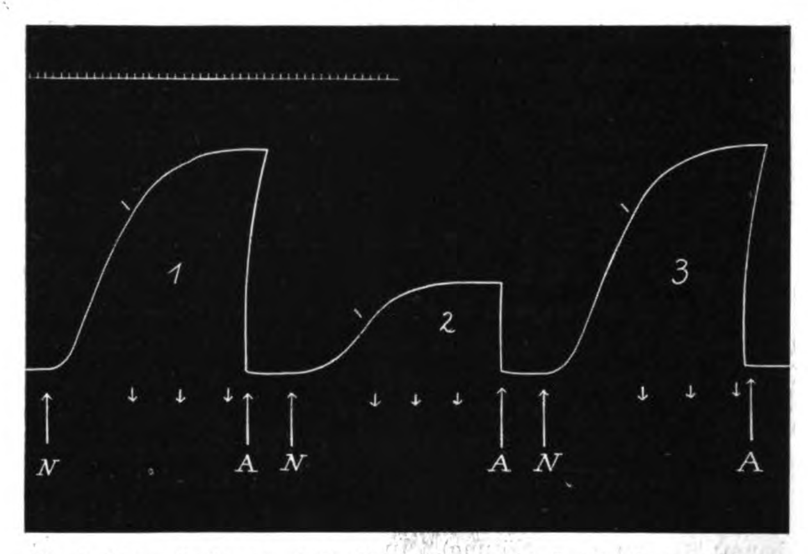


Fig. 3. Blutegelpräparat. 1, 3: Nicotin 1 : 500 000. 2: Nicotin 1 : 1 Million. Alkohol $3\,^0/_0$. Zeit = Minuten.

innerhalb 10 Minuten keinen Anstieg zeigte, wurde die zweite mit Nicotin 1 : 500 000 angestellt. Bei der dritten Vergiftung, angestellt mit Nicotin 1 : 1 Million, erwies sich diese Lösung schon etwas wirksam, und die Empfindlichkeit des Präparates nahm allmählich so weit zu, daß sie von der des Kopfstückes nicht mehr weit entfernt war. Teil 1 und 3 in der Figur zeigen die Vergiftung mit Nicotin 1 : 500 000, Teil 2 mit 1 : 1 Million. Diesen Vergiftungen in der Figur waren sechs andere voraufgegangen. Aus Fig. 3 ist ersichtlich, daß auch bei Verwendung der stärkeren Nicotinkonzentrationen dasselbe Verhältnis im Kurvenanstieg besteht wie bei der Verwendung schwächerer Lösungen: Die Contraction, welche die Lösung 1 : 500 000 hervorbringt, ist mehr als doppelt so stark wie die von 1 : 1 Million. Bemerkt sei, daß hier in den Vergiftungen der Fig. 3 das Auswaschen mit Alkohol ($3\,^0/_0$) beim ersten wiedergegebenen Anstieg 25 Minuten, beim zweiten 10 und beim dritten 34 Minuten dauerte, während in Fig. 1 das Auswaschen von Nicotin 1 : 1 Million im Durchschnitt 10, von 1 : 2 Millionen im Durchschnitt 5 Minuten dauerte.

Unter Berücksichtigung des hier und in der vorhergehenden Abhandlung Gesagten gestaltet sich die quantitative Bestimmung

des Nicotins am Blutegel in der Weise, daß die unbekannte Konzentration, und zwar zuerst weitgehend mit Ringerlösung verdünnte, zwischen Lösungen bekannter Konzentration geprüft wird. Bei den großen Wirkungsunterschieden, die verschieden starke Nicotinlösungen am Blutegelpräparat aufweisen, lassen sich Lösungen unbekannten Gehaltes recht genau quantitativ bestimmen. Verwendet man 20 ccm Lösung für das Blutegelpräparat, so enthält diese in der Konzentration 1:2 Millionen die Menge von $^1/_{100}$ mg Nicotin bzw. seines Salzes.

Diese contrahierende Wirkung des Nicotins an der glatten Muskulatur des Blutegels wird, wie früher[1]) gezeigt wurde, durch Curarin, Strychnin und andere Substanzen antagonistisch beeinflußt.

Wäßrige ungereinigte Tabakauszüge sind am Blutegelpräparat gut wirksam.

Zusammenfassend ergibt sich, daß am Blutegelpräparat die Menge von $^1/_{100}$ mg Nicotin quantitativ bestimmbar ist.

---

[1]) H. Fühner, Über den Antagonismus Nicotin—Curare. Arch. f d. ges. Physiol. 129, 109, 1909.

Versuche über Blausäurewirkung auf Pflanzen.

Von

C. Wehmer.

(Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Technisch-Chemischen Instituts der Technischen Hochschule zu Hannover.)

(Eingegangen am 18. September 1918.)

Die giftige Wirkung von Cyanverbindungen (Anion Cyan) [1]) auf Pflanzen ist seit lange bekannt, eingehende Untersuchungen scheinen in der neueren Literatur jedoch nicht vorzuliegen. Nur vereinzelte Tatsachen finde ich in den Werken von Czapek, Abderhalden u. a. aufgeführt [2]). Bei einigen Versuchen mit freier Blausäure auf Kressepflanzen und -samen, wie ich sie kürzlich anstellte, ergab sich eine so außerordentliche Empfindlichkeit meiner Pflanze, daß ich die Frage etwas näher verfolgte und im folgenden kurz die Resultate wiedergebe. Praktisches Interesse haben sie für Beurteilung der Leuchtgaswirkung auf Pflanzen; an anderer Stelle konnte ich zeigen [3]), daß Hauptträger der Giftwirkung des Gases auf Pflanzenwurzeln eben die regelmäßig vorhandene Blausäure ist. Für meine Versuchspflanzen erwies sich deren Schädlichkeit ungleich größer, als das aus einigen früheren Angaben [4]) hervorgeht.

Zur Darstellung meiner Säure benutzte ich Blutlaugensalz (10 Teile auf 7 Teile H_2SO_4, verdünnt mit 14 Teilen Wasser), das Gas wurde in

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 2, 351, 1901.

[2]) Czapek, Biochemie der Pflanzen. 2, 919, 1905. — Abderhalden, Biochemisches Handlexikon. 1, 2. Hälfte, 923, 1911.

[3]) Zeitschr. f. angew. Chem. 1918. S. Sem.

[4]) Schaer sah Keimungshemmung erst bei 0,05 %, nach Löw ertrugen grüne Algen noch 0,1 %, Tentakel von Drosera nach Darwin bis 0,25 %; zit. nach Czapek l. c.

vorgelegtem Wasser aufgefangen. Die unter Glasstopfen aufbewahrte wäßrige Lösung enthielt rund 1,9 % HCN, in 1 ccm = 19 mg = 15 ccm CHN. Für die Versuche wurde sie meist in 10facher Verdünnung angewandt (1 ccm auf 1 l Wasser = 0,0019 % HCN), in 1 ccm = 0,019 mg HCN enthaltend.

Bestimmung durch Fällung als Cyansilber, mit $AgNO_3$ unter Zusatz von 1 Tropfen HNO_3, Wägung als AgCN.

a) 5 ccm der ursprünglichen wäßrigen Lösung lieferten 0,473 g AgCN = 0,096 g HCN, entsprechend 1,92 % HCN.

b) 5 ccm derselben Lösung ergaben 0,470 g AgCN, entsprechend 0,0952 g HCN = 1,904 % HCN.

Unter Zugrundelegung des Gewichtes von 1,21 mg für 1 ccm gasförmiger HCN würden 100 ccm meiner wäßrigen Lösung (mit 1,9 g HCN) rund 1570 ccm gasförmiger Säure enthalten, in 1 ccm also 15,7 ccm CNH.

1. Wirkung auf oberirdische Teile grüner Pflanzen.

Topfpflanzen unter luftdicht schließender Glasglocke von 8 bis 8,4 l Volumen; die 1,9 %ige Blausäure wurde in flachen Glasschälchen mit 1 ccm bis herunter auf 0,1 ccm eingebracht[5]). + 20°.

a) 0,185 Vol.-% HCN; 1 ccm wäßriger Säure (15,7 ccm = 19 mg HCN enthaltend) eingestellt, Luftvolumen 8,4 l. Versuchspflanzen: Kressekeimlinge, Geranium Robertianum, Gräserspezies. 17. Juli. Wiederholung am 10. August (mit Kresse allein) mit gleichem Resultat.

Verlauf nach 1 Tage: Kresse umgefallen, welk, tot; Geranium ebenso; Graspflanzen unverändert.

Verlauf nach 2 Tagen: Gräser zum Teil welkend.

Verlauf nach 3 Tagen: Gräser mit schlecht aussehenden, grauverfärbten Blättern.

Verlauf nach 5 Tagen: Auch Blätter der Graspflanzen grau und tot.

b) 0,0975 Vol.-% HCN; 0,5 ccm der wäßrigen Säure (9,5 mg = 7,85 ccm HCN). Luftvolumen 8,4 l. Kresse. 19. Juli.

Verlauf: Pflanzen nach 1 Tage tot (welk, umgefallen, verfärbt).

c) 0,0488 Vol.-% HCN; 0,25 ccm der wäßrigen Säure (4,75 mg = 3,93 ccm HCN). Luftvolumen 8 l. Kresse. 20. Juli.

Verlauf: Alle Pflänzchen nach 2 Tagen umgefallen, verfärbt, tot.

d) 0,0244 Vol.-% HCN; 0,125 ccm der wäßrigen Säure (2,375 mg = 1,965 ccm HCN). Luftvolumen 8,4 l. Kresse. 22. Juli.

Verlauf nach 1 Tage: Teil der Pflänzchen sich neigend.

Verlauf nach 2 Tagen: Hälfte der Pflänzchen mit gesenktem Kopfende.

[5]) Verdunstet binnen kurzem. Die Kressekeimlinge (Lepidium sativum) meist ca. 5 bis 6 Tage alt, ca. 3 bis 4 cm hoch; aus Samen auf Blumentopf gezogen.

Verlauf nach 3 Tagen: Alle Pflänzchen mit hängendem welken grünen Kopf; Schimmelbildung (Mucor).

Verlauf nach 4 Tagen: Die meisten Pflänzchen niederliegend, verschimmelt, tot.

Verlauf nach 5 Tagen: Zunahme des Verfalls, meisten verschimmelt.

Verlauf nach 7 Tagen: Alle Pflänzchen verjaucht auf der Topferde; Mucorrasen.

e) 0,0185 Vol.-% HCN; 0,1 ccm der wäßrigen Säure (1,9 mg = 0,983 ccm HCN). Luftvolumen 8,4 l.

Verlauf nach 5 Tagen: Alle Pflänzchen unverändert.

Verlauf nach 7 Tagen: Einzelne Pflänzchen umknickend, Wassertropfenausscheidung am Stiel.

Verlauf nach 9 Tagen: Meist geknickter Stengel, einzelne welk, grau.

Verlauf nach 11 Tagen: Alle Pflänzchen verfärbt, welk am Boden, tot.

Verlauf nach 15 Tagen: Alle Pflänzchen verdorrt am Boden.

Ungleiche Empfindlichkeit der einzelnen Pflanzen kommt mehrfach vor, übrigens läßt sich der eingetretene Tod natürlich nicht immer auf den Tag genau beurteilen, wo aber die Spitzen der Pflanzen (Keimblätter) absterben, sind sie natürlich schon vernichtet.

Kurz zusammengefaßt ergibt sich für die grünen Keimpflanzen:

Vol.-% CNH	Tot nach	Angewandte mg CNH auf 8 bis 8,4 l Luft
0,1850	1 Tage	19,00
0,0975	1 "	9,50
0,0488	2 Tagen	4,75
0,0244	4 "	2,37
0,0185	10 bis 11 Tagen	1,90

2. Wirkung auf Samenkeimung (Kresse).

I. In wäßriger Lösung.

Samen auf Fließpapier ausgestreut (ca. 30 bis 50), das auf der stark verdünnten wäßrigen Blausäure in bedeckten Glasschälchen schwimmt (Doppelschalen mit Wasserabschluß), so daß Entweichen des Cyanwasserstoffes ausgeschlossen ist. Volumen der Flüssigkeit 1 bis 464 ccm; Blausäuregehalt des Wassers 0,00024 bis 0,0570 %. 14 Versuche. Juli-August. $\pm$ 20°.

Das Wesentliche kurz zusammengestellt (unter Anschluß

von Versuch 1 bis 5 und 13 bis 14), ergibt sich für die Samenkeimung in blausäurehaltigem Wasser:

Bei °/₀ CNH	Keimungsbeginn nach Tagen	Angewandte mg CNH
0,00024	Nach 1 Tage langsame Entwicklung zu kleinen Pflänzchen	0,475
0,00048	„ 2 Tagen sehr langsame Weiterentwicklung	0,950
0,00095	„ 3 „ ohne nennenswerte Weiterentwickung	1,900
0,00095	„ 4–5 „ ohne nennenswerte Weiterentwickung	3,800
0,00190	„ 3 „ ohne nennenswerte Weiterentwickung	4,200
0,00190	„ 9–10 „ ohne nennenswerte Weiterentwickung	5,200
0,00950	0 absterbend	19,000

Die störende Wirkung nimmt also mit steigender Konzentration rasch zu, schon ab 0,00095 % CNH kommt es auch in 10 bis 17 Tagen nicht mehr zur Entwicklung der Pflänzchen, sehr langsam wächst lediglich das Würzelchen bis zu 3 bis 4 mm Länge aus. Auch bei 0,00024 bis 0,00048 % kam es nur zu kleinen kümmerlichen Pflänzchen.

Bei der gleichen Konzentration von 0,00095 % machte es wenig aus, ob 4,2 mg oder nur 1,9 mg CNH angewendet wurden. Die ersten Versuche 1 bis 5 möchte ich hier ausscheiden, sie sind kaum mit den folgenden zu vergleichen; bei diesen minimalen Cyanwasserstoffmengen (0,019 bis 0,152 mg) in sehr kleinem Wasservolumen muß der durch Verdunstung in dem Luftraum entstehende Fehler stark wachsen. Immerhin zeigen sie die Reizwirkung auf das Wachstum durch CNH-Spuren, die Entwicklung des Würzelchens nach Verlauf des ersten Tages geht rapid vonstatten.

Bemerkt sei noch, daß Kressesamen in reinem Wasser bei ± 20° nach rund einem Tage zu keimen beginnen, 4 bis 5 Tage später haben die grünen Pflänzchen schon eine Höhe von ca. 3 bis 4 cm.

II. In Gasform.

Samen, auf Erde eines Topfes liegend oder auf Fließpapier, das auf Wasser schwimmt, unter Glasglocke von 8,4 l, daneben ein Schälchen mit 0,1 bis 1 ccm wäßriger Blausäure (enthaltend 1,9 % HCN), wie oben. Vol.-% der Atmosphäre 0,0185 bis 0,185 HCN.

a) 0,185 Vol.-% HCN; 1 ccm wäßrige Säure (19 mg HCN enthaltend). 29. Juli. Samen auf Erde. Glockenvolumen 8,4 l.

Die Samen entwickeln sich langsam zu grünen Pflänzchen, von denen aber der größere Teil weiterhin eingeht, so daß nach 4 Wochen nur noch 7 gesunde normale Exemplare (mit ausgebildeten Laubblättern!) übrig sind.

Verlauf nach 7 Tagen: Alle Samen ungekeimt.

Verlauf nach 9 Tagen: Einzelne keimend.

Ergeb-

Versuch Nr.	CNH %	CNH mg	Flüssigkeits-Vol. ccm	Nach 1 Tage	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen
1	0,00190	0,019	1	gekeimt, fast alle Wurzeln bis 3 mm lang	starker Fortschritt	grüne Pflanzen bis 1/2 cm, Wurzeln 1 bis 2 cm	
2	5,00190	0,038	2	gekeimt, gut Hälfte, Wurzeln bis 1 mm	starker Fortschritt	grüne Pflanzen bis 1/2 cm, Wurzeln oft aufwärts	
3	0,00190	0,076	4	teilweise gekeimt	stark gekeimt, Wurzeln bis 1 cm! Keimblätter meist frei		
4	0,00024	0,076	32	gekeimt, fast alle Wurzeln bis 2 mm lang	Wurzeln bis 1 cm!		kleine grüne Pflanzen
5	0,00050	0,152	32	vereinzelt gekeimt, Wurzeln Spur (bis 1 mm)	Wurzeln bis 1 cm!		grüne Pflanzen bis 2 cm
6	0,00024	0,475	200	vereinzelt gekeimt, Wurzeln bis 1 mm	Hälfte gekeimt, Wurzeln 1 bis 3 mm	meist gekeimt, Wurzeln 5 mm	starker Fortschritt, viele Keimpflanzen ganz frei, bleich
7	0,00048	0,950	200	alle ohne Keimung	Spur Keimung, Wurzeln 1 bis 2 mm	meist gekeimt, Wurzeln bis 3 mm	nur einzelne Keimblätter frei
8	0,00095	1,900	200	alle ungekeimt		Spur Keimung, Wurzeln 1 mm	Spur Keimung, Wurzeln 1 bis 2 mm
9	0,00190	3,800	200	alle ungekeimt	ungekeimt	ungekeimt	Spur Keimung (Wurzelspitze)
10	0,00095	4,200	464	alle ungekeimt	meist ungekeimt, (vereinzelt Wurzelspitze)	vereinzelt gekeimt, Wurzeln bis 1 mm	
11	0,00190	5,200	280	ungekeimt	alle ungekeimt	alle ungekeimt	ungekeimt
12	0,00950	19,000	200				alle Samen ungekeimt
13	0,00790	0,713	10				desgl.
14	0,01450	1,425	10				desgl.

nisse.

Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 17 Tagen
	normale grüne Pflanzen bis über 2 cm hoch				
	normale grüne Pflanzen bis über 2 cm hoch				
	normale grüne Pflanzen, 2 cm, mit langen Wurzeln				
grüne Pflanzen von 2 bis 3 cm					
grüne Pflanzen von 2 bis 3 cm					
	1 cm lange, freie bleiche Keimlinge	meisten Keimlinge frei, 1 cm			
	wenig Fortschritt, fast nur Wurzeln	Keimlinge erst teilweise frei (gegen 6 stark zurück)			
ohne Fortschritt, Wurzeln 1 bis 2 mm	ohne Fortschritt	wenig Fortschritt, vereinzelt Wurzeln bis 3 mm	ohne Fortschritt	ohne Fortschritt	
ohne Fortschritt	teilweise Wurzeln bis 1 mm	vereinzelt Wurzeln bis 2 mm, meisten ungekeimt	ohne Fortschritt	ohne Fortschritt	
teilweise Wurzeln bis 2 mm	ohne Fortschritt	ca. Hälfte gekeimt, Wurzeln bis 2 mm	meisten mit Wurzeln bis 2 mm (kein Fortschritt)	ohne sichtbaren Fortschritt	stärkere Keimung, Wurzeln bis 4 mm, freie Keimblätter bei ca. $^1/_3$
ungekeimt	ungekeimt	ungekeimt	Spur Keimung, Wurzelspitze bei ca. der Hälfte	ohne Fortschritt	ohne merklichen Fortschritt, vereinzelt Wurzeln bis 1 mm
und nach 9 Tagen nachweislich abgestorben					
	desgl.				
	desgl.				

Verlauf nach 11 Tagen: Fast alle gekeimt, Würzelchen bis 2 mm lang.
Verlauf nach 12 Tagen: Würzelchen bis 5 mm.
Verlauf nach 15 Tagen: Keimblätter frei werdend.
Verlauf nach 17 Tagen: Keimpflanzen ca. 1 cm groß, bleich.
Verlauf nach 19 Tagen: Wenig Fortschritt, einzelne ergrünt.
Verlauf nach 21 Tagen: Die meisten Pflanzen werden welk, Wasserausscheidung am Stiel.

Verlauf nach 23 Tagen: Noch 8 Pflanzen gesund, ca. 3 cm hoch, übrige verwelkt, grau verfärbt.

Verlauf nach 29 Tagen: Noch 7 gesunde grüne Pflanzen, 4 bis 5 cm hoch, mit wachsenden Laubblättern.

Verlauf nach 40 Tagen: Wie vorher, 7 normale Pflanzen.

Wiederholung: Nach 5 Tagen zum Teil keimend und Entwicklung zu grünen Pflanzen.

b) 0,0975 Vol.-% CNH; 0,5 ccm wäßriger Säure (9 mg CNH enthaltend). Samenaussat auf feuchtem Fließpapier[1]). 19. Juli. Volumen 8,4 l. Verlauf ähnlich wie in a).

Bis zum 5. Tage ungekeimt, am 6. Tage Hälfte der Samen mit Würzelchen bis 3 mm, am 7. Tage Wurzel bis 1 cm, am 8. Tage kleine grüne Pflänzchen, die nach 10 Tagen 1 bis 3 cm hoch sind. Ein Teil der Samen ist aber noch ganz zurück, hier treten die Keimblätter soeben hervor.

c) 0,0488 Vol.-% CNH; 0,25 ccm wäßriger Säure (mit 4,8 mg CNH). Volumen der Glasglocke 8 l. Samen auf Fließpapier. 20. Juli.

Samenkeimung beginnt nach 3 Tagen, am 4. Tage ist ca. die Hälfte gekeimt, Würzelchen bis 4 mm, am 5. Tage alle Samen mit 3 bis 10 mm langer Wurzel (reich behaart), am 6. Tage freie grüne Pflänzchen, bis 1 cm hoch, Wurzel bis 1 cm lang, nach 10 Tagen normale ca. 3 bis 4 cm hohe Pflanzen.

d) 0,0244 Vol.-% CNH; 0,125 ccm der wäßrigen Säure (2,4 mg CNH). Volumen der Glasglocke 8,4 l. Samen auf Fließpapier. 22. Juli.

Keimung schneller als vorher. Nach 2 Tagen Hälfte der Samen mit Würzelchen bis 4 mm lang, nach 3 Tagen kleine grüne Pflanzen, die nach 4 Tagen bereits 1 bis 2 cm, nach 7 Tagen $\pm$ 3 cm hoch sind. Schädlicher Einfluß kaum vorhanden.

e) 0,0185 Vol.-% CNH; 0,1 ccm wäßriger Säure (1,9 mg CNH). Volumen der Glocke 8,4 l. Samen auf Erde. 29. Juli.

Keimungsbeginn nach 1 Tage (Wurzelspitze). Bereits am 2. Tage starker Fortschritt, mit teilweise hervortretenden Keimblättern, Würzelchen mit starken Haarbildungen, bereits in Erde eindringend. Nach 4 bis 5 Tagen kräftige junge grüne Pflänzchen, nach 4 Wochen bis 7 cm hoch und mit entfaltenden Laubblättern. Also ungestörte Entwicklung.

[1]) Zwecks Ausschlusses der etwaigen Wirkung der Topferde auf das Gas (Zersetzung).

Kurz zusammengefaßt ergibt sich für die Samenkeimung in blausäurehaltiger Atmosphäre:

Bei Vol.-% CNH	Keimungsbeginn nach	Freie grüne Keimpflanzen nach
0,1850	9 Tagen	17 Tagen
0,0975	6 "	8 "
0,0488	3 "	6 "
0,0244	2 "	3 "
0,0185	1 Tage	2–3 "

Aus diesen Versuchen ergibt sich eine außerordentlich hohe Leistungsfähigheit der Blausäure, schon Gaben unter 1/2 mg zeigen eine deutlich schädigende Wirkung, Bruchteile davon wirkten im Sinne einer Wachstumsbeschleunigung.

Am auffälligsten ist der Unterschied in dem Verhalten der Samen und der grünen Pflanzen, letztere sind weit empfindlicher; in einer Atmosphäre mit 0,185 bis 0,0185 Vol.-% CNH starben die eingebrachten grünen Keimpflanzen der Kresse stets ab, während die Samen derselben nicht nur am Leben blieben, sondern auch alsbald keimten und sich zu grünen Pflänzchen entwickelten. Die Entwicklung des Embryos zur jungen Pflanze findet hier also in derselben CNH-haltigen Atmosphäre statt, die fertige grüne Pflänzchen in wenigen Tagen tötet. Das ist nicht ohne weiteres verständlich, der Keimling ist offenbar unempfindlicher, anscheinend findet eine allmähliche Gewöhnung an die CNH statt, die in ihr allmählich heranwachsende Pflanze leidet nicht mehr, die plötzlich in sie eingebrachte geht zugrunde.

Beim Vergleich der wäßrigen Säure mit der gasförmigen gegenüber der Samenkeimung scheint es zunächst, als ob erstere stärker wirkt, 0,185 Vol.-% CNH der Atmosphäre verzögerten die Keimung um ca. 9 Tage; ungefähr die gleiche Verzögerung wurde bereits durch eine 0,0019%ige wäßrige Lösung herbeigeführt, hier blieb schon bei 0,00095% Weiterentwicklung aus, während bei 0,185 Vol.-% CNH der Luft noch Entwicklung zu grünen Pflänzchen folgte. Tatsächlich ist aber ja die wäßrige Lösung ungleich CNH-reicher; sie enthält bei 0,00024% CNH schon ungefähr ebenso viel Milligramm auf 1 l als die Atmosphäre mit 0,185 Vol.-% CNH (2,4 mg auf 1 l Luft). Vergleicht man die Zahlen, so ergibt sich sogar, daß bei 2,4 mg CNH auf 1 l Luft die Samenkeimung erst nach 9 Tagen, bei 2,375 mg CNH auf 1 l Wasser aber schon nach 1 Tage begann, und eine Keimungsverzögerung von 3 bis 4 Tagen erst durch wenigstens 9 mg CNH auf 1 l Wasser, aber schon durch 0,6 mg

CNH auf 1 l Luft herbeigeführt wurde; allerdings fand nur im letzteren Falle eine Weiterentwicklung zu grünen Pflänzchen statt.

A. Wirkung gasförmiger Blausäure auf grüne Pflanzen und Samenkeimung.

Versuch Nr.	Vol.-% CNH der Atmosphäre	1. auf grüne Pflanzen	2. auf Samen	Faktisch angewandte mg CNH auf 8 bis 8,4 l Luft	Ber. mg CNH auf 1 l Luft
1a	0,1850	Tot nach 1 Tage	Samenkeimung nach 9 bis 10 Tagen, Keimpflänzchen meist absterbend nach 21 Tagen	19,000	2,40
b	0,0975	„ „ 1 „	Keimung nach 6 bis 7 Tagen	9,500	1,20
c	0,0488	„ „ 2 Tagen	Keimung nach 3 bis 4 Tagen	4,750	0,60
d	0,0244	„ „ 4 „	Keimung nach 2 Tagen	2,375	0,30
e	0,0185	„ „ 10–11 „	Keimung nach 1 Tage, Pflänzchen nach 4 Wochen noch am Leben (7 cm hoch)	1,900	0,24

B. Wirkung wäßriger Blausäure auf Samenkeimung.

Versuch Nr.	% CNH	Keimungsbeginn	Faktisch angewandte mg CNH	Berechnet mg CNH auf 1 l Wasser
6	0,00024	Nach 1 Tage spärliche (Spur), langsame Entwicklung zu kleinen freien Keimlingen (8 Tage)	0,475	2,375
7	0,00048	„ 2 Tagen spärliche, sehr langsame Entwicklung zu einzelnen kleinen Pflänzchen (8 Tage)	0,950	4,750
8	0,00095	„ 3 „ } ohne Fortschritt (nur Würzelchen bis 3 mm in 8 Tagen)	1,900	9,500
9	0,00190	„ 4 „	3,800	19,000
10	0,00095	„ 2–3 „	4,200	9,050
11	0,00190	„ 10 „	5,200	15,000
12	0,00950	} ohne Spur von Keimung, absterbend, nach 4 bis 9 Tagen tot	19,000	95,000
13	0,00790		0,713	71,300
14	0,01450		1,425	142,500

Ein Fehler kommt in die Versuche durch das rasche Entweichen des CNH aus der wäßrigen Lösung in den Luftraum, er wird um so größer, je kleiner die Flüssigkeitsmenge ist, die Versuche 1 bis 5 scheide ich deshalb ganz aus. Zur Versuchsanstellung sei bemerkt, daß die flachen Glasschalen (Krystallisierschalen) mit 200 bis 400 ccm verdünnter Blausäure bis kurz unter den Rand gefüllt und durch Deckelschale, die unten in Wasser tauchte, bedeckt waren (Wasserverschluß).

Trotzdem liegen die Samen unvermeidlicherweise oft gleichzeitig in einer cyanwasserstoffgashaltigen Atmosphäre unbekannter Stärke, wenn nicht Sorge getragen wird, daß sie stets 1 bis 2 mm unter Wasser zu liegen kommen.

3. Tödliche Dosis für Samen (Kresse).

Die keimungsverhindernde Dosis liegt nach obigen Zahlen offenbar bei ungefähr 0,0019 % der wäßrigen Säure, aber schon die Hälfte genügte, eine Weiterentwicklung des Embryos zu verhindern, es kam lediglich zum Durchbruch des Würzelchens, selbst 0,00048 % ließen binnen 8 Tagen nur vereinzelte Keimlinge frei aus der Samenschale hervortreten.

Die innerhalb derselben Zeit tödlich wirkende Dosis liegt wesentlich höher, sie beträgt ungefähr das 4- bis 5 fache. Zur genaueren Bestimmung wurden die Samen wie oben auf Fließpapier ausgesät, das auf einer 0,0095 %igen Blausäurelösung schwamm (19 mg CNH in 200 ccm Wasser) und wie oben durch Deckelschale abgeschlossen war (Wasserverschluß). Keimung fand hier natürlich nicht statt. Die Versuche wurden dann in verschiedenen Zwischenräumen (4, 6 und 9 Tage) abgebrochen, die Flüssigkeit durch reines Wasser ersetzt, die Samen selbst behutsam abgespült und auf Keimfähigkeit beobachtet. Dabei ergab sich folgendes.

a) Schale 1. Nach 4tägiger Berührung mit der 0,0095 %igen CNH-Lösung:

Langsame Keimung nach 3 Tagen beginnend, nach 9 Tagen Würzelchen bis 8 mm, erst nach 17 Tagen traten die Keimblätter hervor, nach 22 Tagen kleine freie grüne Pflänzchen. Also starke Störung.

b) Schale 2. Nach 6tägiger Berührung:

Spärliche Keimung vom 3. Tage ab (Wurzelspitze hervortretend), nach 9 Tagen messen die Würzelchen erst bis 2 mm, dann stand das Wachstum still, auch nach 20 Tagen kein Fortschritt, nach 25 Tagen starben die Würzelchen ab. Der 6 tägige Aufenthalt auf der verdünnten Blausäure war also schon verhängnisvoll, eine Erholung findet nicht statt.

c) Schale 3. Nach 9tägiger Berührung:

Kein Same keimte (Beobachtungsdauer 22 Tage).

Hiernach findet Abtötung der Kressesamen durch eine rund 0,01 %ige Blausäure nach 9 Tagen statt. Eine Säure unterhalb dieser Konzentration (0,00 713 %) leistet aber schon dasselbe, wie noch folgender Versuch zeigt.

Die Samen wurden hier in Gläschen mit eingeschliffenen Stopfen sogen. Wägegläschen) 9 Tage untergetaucht der Einwirkung sehr geringer CNH-Mengen (0,7 bis 2,85 mg) ausgesetzt und die wäßrige Säure alsdann durch reines Wasser ersetzt; in keinem Falle trat Keimung ein. Weniger als 1 mg CNH genügte hiernach in ca. 0,007 %iger Lösung zur Abtötung von rund 50 mg Samen. Die Zahlen waren folgende:

Vers. Nr.	
1	0,05700% CNH (2,850 mg auf 5,0 ccm Wasser)
2	0,02850% „ (2,850 „ „ 10,0 „ „)
3	0,02850% „ (1,425 „ „ 5,0 „ „)
4	0,01900% „ (1,425 „ „ 7,5 „ „)
5	0,01425% „ (1,425 „ „ 10,0 „ „)
6	0,00713% „ (0,713 „ „ 10,0 „ „)

4. Wirkung auf Wurzeln.

Die Art der Wirkung auf Wurzeln ergibt sich bereits aus den mitgeteilten Versuchen über Samenkeimung, junge Wurzeln werden im Wachstum zunächst gehemmt, schon bei sehr geringen Dosen (0,00095% CNH) wird es alsbald ganz unterdrückt, das Organ stirbt aber erst nach längerer Zeit ab. Das gilt nicht nur für Keimwurzeln, sondern auch für entwickelte Wurzelsysteme größerer Pflanzen (Schminkbohne, Pferdebohne, Ulme u. a.), doch sind nicht alle gleich empfindlich. Lindenwurzeln ertrugen z. B. mehrere Wochen eine Nährlösung mit ca. 0,001% CNH, ohne abzusterben. Auf dieser Tatsache beruht im wesentlichen die Schädigung von Pflanzen durch unterirdisch ausströmendes Leuchtgas, über die ich an anderer Stelle[1]) bereits ausführlicher berichtet habe.

Den mitgeteilten Versuchen brauche ich nicht viel hinzuzufügen.

Grüne Kressepflanzen wurden innerhalb ca. 10 Tagen schon durch 0,24 mg CNH auf 1 l Luft (1,9 mg CNH auf 8,4 l) abgetötet, die verquollenen, in Wasser liegenden Samen derselben Pflanze verlangen aber auf 1 l Wasser gegen 71,3 mg zur Erzielung derselben Wirkung in ungefähr gleicher Zeit, obgleich schon die Dosis von 2,375 mg auf 1 l Wasser ihre Keimung und Entwicklung stark beeinträchtigte. Auch unter Wasser liegend sterben übrigens grüne Blätter schon in sehr verdünnten Lösungen alsbald ab.

Weshalb die in der Entwicklung vorgeschrittenen Pflänzchen nun um ein Vielfaches empfindlicher sind, bleibt zunächst unerklärt — Samen sind allgemein resistenter — man könnte versucht sein, das schließlich zu einer Störung ganz bestimmter Funktionen (Assimilation) in Beziehung zu setzen, dagegen spricht

[1]) Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. **35**, 135, 318, 403, 1917; **36**, 140, 500, 1918.

aber wohl die Schnelligkeit des Eintritts der Schädigung (bereits nach 1 Tage), auch müßte man für die von vornherein in blausäurehaltiger Luft aus Samen heranwachsenden grünen Pflänzchen dann eine rasche Gewöhnung an diese Störung voraussetzen. Aber es leiden ja schließlich ebenfalls die Samen unter der Cyanwasserstoffwirkung, überall sehen wir eine sich mit der Giftdosis allmählich verstärkende Hemmung der Lebensäußerungen, ihr erliegt die bereits herangewachsene Pflanze besonders schnell; wieso die minimale Menge von 2 bis 4 mg CNH auf 8 l Luft dies bewirkt, ist unerklärt[1]). Die intensive Wirkung der Blausäure auf Kresse läßt die der meisten anderen Gifte weit hinter sich; es wäre sicher von Interesse, noch andere Pflanzen und auch solche, in denen Cyanwasserstoff vorkommt, in dieser Hinsicht einmal näher zu studieren und den Grad der Unempfindlichkeit dieser genauer festzustellen; anscheinend beruht auch die Unempfindlichkeit mancher anaerober Mikroorganismen gegen Leuchtgas auf der gegen Blausäure.

[1]) Bei dem Pilz Aspergillus niger sah Schröder eine Herabdrückung der Sauerstoffatmung in blausäurehaltiger Luft (Jahrb. f. wissensch. Botan. 44, 409, 1907); irgendeine Beziehung zu Oxydationsprozessen ist wohl vorstellbar, zumal solche ja auch durch gewisse andere Substanzen beschleunigt werden können. Daß anaerobe Atmung und Gärung von Mucor, gewisser Bakterien und Hefen unter übrigens gleichen Verhältnissen nicht geschädigt werden, erschiene da verständlich. Man vergleiche übrigens die tierphysiologische Literatur bei Abderhalden l. c.

Über den angeblichen Antagonismus von Schilddrüse und Milz.

Von

R. Klinger.

(Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 19. September 1918.)

In einer Reihe in dieser Zeitschrift erschienener Arbeiten hat L. Asher mit verschiedenen Mitarbeitern versucht nachzuweisen, daß Schilddrüse und Milz das Knochenmark und den O_2-Verbrauch in entgegengesetzter Weise beeinflussen. Er gelangt zu der Annahme eines Antagonismus beider Organe, für den sich gegenseitig hemmende Hormone verantwortlich gemacht werden. Diese Hypothese wird gestützt auf folgende 3 Versuchsserien: 1. Schilddrüsenlose Ratten sollen bei hochgradiger Luftverdünnung keine Erstickungserscheinungen zeigen und sich gegen einen O_2-Mangel, der normale Tiere dem Erstickungstode nahebringt, ganz gleichgültig verhalten. Milzlose Tiere reagieren empfindlicher, milz- und schilddrüsenlose dagegen wieder wie normale Ratten[1]). 2. Nach Entfernung der Schilddrüse nimmt der Thrombingehalt des Knochenmarkes und des Serums erheblich zu, nach der Wegnahme der Milz dagegen im Blutserum ab[2]). 3. Die Blutbildung wird durch Wegnahme der Milz oder der Schilddrüse in entgegengesetztem Sinne beeinflußt, die Schilddrüse arbeitet hierbei im Sinne einer Erregung, die Milz im Sinne einer Hemmung[3]).

Die Frage schien mir sowohl wegen der mannigfaltigen, von Asher aus diesen Beobachtungen gezogenen Schlußfolge-

---

1) Asher und Streuli, 87, 417.

2) Yamada (bei Asher), 87, 328.

3) Asher und Dubois, 82, 187.

rungen[1]), als auch im Hinblick auf therapeutische Eingriffe (Milzexstirpation usw.) beim Menschen wichtig genug, um sie einer Nachprüfung zu unterziehen. Ich sah mich hierzu um so mehr veranlaßt, als ich zur Zeit, da mir die unter 1 erwähnte Arbeit näher bekannt wurde, über eine größere Anzahl schilddrüsenfreier Ratten verfügte. Diese stammen aus dem Versuchsmaterial einer umfangreichen Studie über experimentelle Tetanie, mit der ich seit einiger Zeit gemeinsam mit Herrn Dr. E. Farner beschäftigt bin, und deren Ergebnisse wir an anderer Stelle mitteilen werden. Mit diesen sicher schilddrüsenfreien Tieren[2]) wurde eine große Anzahl Versuche nach der von Asher und Streuli angegebenen Methodik ausgeführt. Das Ergebnis war, wie ich gleich vorwegnehmen möchte, ein durchaus negatives. Eine irgendwie nennenswerte Unterempfindlichkeit der schilddrüsenlosen Ratten konnte nicht festgestellt werden. In den meisten Versuchen, auf deren Einzelheiten ich im folgenden noch eingehe, verhielten sich operierte und normale Tiere gleichartig. Bald war in einem Versuche (jeweils 3 bis 4 Tiere) ein schilddrüsenloses, bald ein normales Tier etwas ängstlicher oder schneller erschöpft als die anderen; ein prinzipieller Unterschied konnte nicht beobachtet werden, obwohl ich die Frage an einer viel größeren Anzahl von Ratten geprüft habe, als die erwähnten Autoren. Es ergab sich sogar die ganz unerwartete Beobachtung, daß bei zwei operierten Ratten während der Luftverdünnung plötzlich allgemeine tetanische Krämpfe eintraten, denen das eine Tier, wie vom Blitz getroffen, sofort erlag, während das andere durch schnelles Öffnen des Hahnes noch gerettet werden konnte (Näheres s. u.). Von den normalen Tieren ist uns dagegen keines gestorben, auch keines während oder nach den Versuchen dem Tode nahegekommen, obwohl wir zum Teil viel niedrigere Luftdruckwerte angewendet haben als Streuli. Wir haben den soeben geschilderten Befund nur bei zwei von im ganzen 19 schilddrüsenlosen Ratten gemacht, und zwar bei zwei männlichen Tieren, die schon vor 3 resp. 4 Monaten

[1]) S. auch: Die Naturwissenschaften, **1917**, H. 43, S. 653.

[2]) Alle seit längerer Zeit (mehr als 3 Wochen) operierten Tiere sind nachoperiert, d. h. auf wirklich vollständige Entfernung der Drüse kontrolliert.

operiert waren. Wir werden weiter untersuchen, ob ein derartiger Zustand latenter Tetanie häufiger vorkommt, und werden hierüber in der geplanten Arbeit näher berichten. Vorläufig sei diese Beobachtung nur erwähnt, um zu zeigen, daß im Gegensatz zu den Angaben Ashers und Streulis schilddrüsenlose Tiere gegen Luftdruckerniedrigung in eigenartiger Weise überempfindlich sein können[1]. Es sei schließlich noch erwähnt, daß wir unsere Versuche auch auf 2 Katzen ausgedehnt haben, von denen die eine vor 5 Monaten thyreo-parathyreoektomiert war; auch hier zeigte sich keine Unempfindlichkeit, vielmehr eine deutlich erhöhte Empfindlichkeit des operierten Tieres.

Hinsichtlich unserer Versuchsanordnung sei folgendes erwähnt: Wir haben die ersten 4 Versuche in einem großen, aber vollständig geschlossenen Exsiccator mit jeweils 2 Tieren angestellt, somit ganz genau nach den Angaben von Asher-Streuli. Es zeigte sich hierbei aber, daß die Tiere, namentlich wenn der Druck unter 200 mm sank, bald Erstickungskrämpfe bekamen (die schilddrüsenlosen in der Regel stärker), so daß wir in der Folge auf Anraten von Prof. Cloëtta (dem ich an dieser Stelle für seine Unterstützung bestens danke) die Versuchsanordnung etwas abänderten. Es wurde eine sehr große Vakuum-Glasglocke (Inhalt ca. $^1/_3$ cbm), die oben mit einem regulierbaren Glashahn versehen war, mit Paraffin auf einem Steintisch abgedichtet und durch eine zweite, seitliche Öffnung mit Manometer und Wasserstrahlpumpe verbunden. Dadurch war es möglich, die Tiere in einem viel größeren Luftraume zu halten, und daher mehr (4 bis 5) Ratten sowie die Katzen in den Versuch zu nehmen; gleichzeitig konnte durch teilweises Offenlassen des oberen Hahnes Luft noch während der Evakuierung (bis zu 300 mm Hg) dauernd eingelassen werden. So konnte der O_2-Partialdruck auf die am Manometer abgelesene Höhe herabgesetzt werden, es blieb den Tieren

[1] Der Einwand, daß unsere Tiere parathyreoektomiert waren, während Asher und Streuli mit nur schilddrüsenlosen Ratten (nach Hinterlassung der Epithelkörper) gearbeitet haben, ist unmöglich, da auch die von Streuli verwendeten Tiere entgegen der Meinung dieses Autors epithelkörperfrei waren. Seine Angabe, daß nämlich die extrathyreoideal gelegenen E.-K. als „nadelspitzgroße Pünktchen unterhalb der Thyreoidea auf der Trachea“ wahrgenommen und bei der Operation geschont werden können, ist ganz unrichtig. Die Ratte hat nur 2 seitlich an resp. in der Schilddrüse sitzende, bei der Operation nicht abtrennbare E.-K., wie aus älteren Arbeiten (Erdheim u. a.) und aus eigenen, genauen Untersuchungen hervorgeht (abgesehen von kleinsten und praktisch bedeutungslosen E.-K.-stückchen, die namentlich in der Thymusspitze angetroffen werden).

aber stets noch O_2 zur Verfügung; während in kleineren und vollständig verschlossenen Glasglocken der wenige noch nicht abgesaugte O_2 rasch verbraucht wird und die Tiere dann nicht in verdünnter Luft, sondern in O_2-freier Luft leben. Dementsprechend traten die schweren Erstickungserscheinungen nicht mehr ein, wir haben die Tiere in manchen Versuchen $^3/_4$ Stunden bei Drucken unter 250 mm gehalten. Nach dieser Verbesserung wurden die meisten Versuche gemacht, wir betonen aber, daß auch die genau nach der von Asher angegebenen Methodik ausgeführten Versuche dasselbe negative Ergebnis gezeigt haben.

Wir lassen nun einige Versuchsprotokolle folgen:

Versuch 1.

Schilddrüsenlose Ratte, ♀, ca. 5 Monate alt (A), vor 4 Monaten operiert; ebenfalls schilddrüsenfreie Ratte, ♀ (rot markiert), $2^1/_2$ Monate alt (B), vor 3 Wochen operiert; ferner 2 Kontrollratten, ca. 3 Monate alte ♀, unoperiert; schließlich ein junges Tier, 5 Wochen alt. Beginn des Versuches $1^h 54'$. $1^h 55'$ 640 mm Druck. Eine Kontrolle läuft wie scheu geworden herum und möchte heraus; alle anderen Tiere sitzen ruhig und putzen sich. $1^h 58'$ 620 mm. Die aufgeregte Kontrolle beruhigt sich allmählich. $2^h 00'$ 555 mm. Die operierte Ratte A schnuppert unruhig, kaut lebhaft. Die unruhige Kontrolle macht brüske Schüttelbewegungen, sitzt dann in Orthopnoestellung über den anderen. Die kleine Ratte kriecht ängstlich in den Rattenhaufen hinein. $2^h 01'$ 475 mm. Ratte A wird stärker unruhig, geht herum, die andern kauern zu einer Pyramide zusammen. Die beiden Kontrollen putzen sich wieder eifrig. $2^h 02'$ 400 mm. $2^h 04'$ 340 mm. Ratte A kriecht etwas herum, die andere operierte und die kleine Kontrolle sitzen verdutzt da; dann wird Ratte B plötzlich unruhig, kriecht unter den anderen hervor. Ratte A legt sich über die andern hinüber. $2^h 05'$ 270 mm. Eine Kontrolle liegt schon flach ausgestreckt, die andere sitzt aufrecht. Alle Tiere atmen schnell und mühsam, nur die kleine Ratte scheint relativ wenig affiziert. $2^h 07'$ 250 mm. Der Glashahn ist immer noch etwas offen. $2^h 09'$ 242 mm. Alle Tiere liegen flach ausgestreckt und schwer atmend da. Zwischen Operierten und Kontrollen besteht nicht der geringste Unterschied. Es wird die Luftzufuhr ganz abgeschlossen ($2^h 10'$). Nach $^1/_2$ Minute wird Ratte A stark unruhig, 225 mm Druck; bald bewegen sich auch die anderen alle etwas lebhafter, dann wieder Ruhe. Bei 218 mm ($2^h 12'$) wieder allgemeine Unruhe, worauf sich eins nach dem andern flach hinlegt. Um $2^h 13'$ wird dann der Lufthahn allmählich geöffnet, die Tiere erholen sich schnell.

Versuch 2.

Großer, älterer weißer ♂, operiert vor 16 Tagen, 280 g schwer (A); weiß-schwarzer ♂, 220 g, operiert vor 14 Tagen (B); dazu 2 Kontrollen, großer weißer ♂, 265 g (C), und schwarz-weißes ♀, 235 g (D). Beginn $3^h 18'$. $3^h 19'$ 670 mm; alle Tiere werden unruhig, namentlich Tier C. $3^h 20'$ 540 mm. $3^h 21'$ 518 mm; nichts Auffälliges, alle Tiere sitzen in

eine Gruppe gedrängt. $3^h 22'$ 480 mm wie vorher. $3^h 23'$ Tier B wird unruhig, putzt sich stark; ebenso D. Tier C sitzt jetzt ganz ruhig da. $3^h 24'$ 430 mm. $3^h 25'$ alle Ratten kriechen übereinander und lehnen sich eine auf die andere. $3^h 26'$ 340 mm, allgemeine Unruhe. Tier D legt sich flach auf den Boden der Glocke. $3^h 28'$, Tiere B und D gehen viel herum, die anderen sitzen mühsam atmend, aber noch aufrecht da. $3^h 29'$ 300 mm, Tier B springt an der Glaswand hinauf, ist stark aufgeregt. $3^h 30'$, Tiere B und D machen weitere Fluchtversuche, 260 mm. $3^h 32'$, alle 4 Tiere sind unruhig. Es wird noch etwas mehr Luft von oben eingelassen, der Druck steigt wieder auf 280 mm. $3^h 45'$, alle Tiere sitzen in der gleichen, hockenden Stellung an das Glas gelehnt da, machen hier und da ruckartige Bewegungen, rücken dann wieder etwas zusammen. $3^h 52'$ ebenso. Es wird jetzt der Luftzutritt abgesperrt. Nach 1 Minute werden alle Tiere sehr lebhaft, bei 245 mm; sie stehen jetzt alle an der Glaswand in „Orthopnoe"stellung. Tier C legt sich dann flach hin, ebenso A; B springt wieder, um zu entkommen, läuft herum. Dann beruhigt es sich; alle Tiere sitzen nun ($3^h 55'$, 218 mm) ruhig da, schwer atmend. Es wird hierauf Luft zugelassen.

Versuch 3 und 4.

Die Versuche waren ähnlich wie die vorhergehenden. Ich erwähne daher nur die beiden von Krämpfen befallenen Tiere. In Versuch 3 war der Druck langsam auf 310 mm gefallen. Die Ratten waren, wie immer, bald aufgeregter, bald wieder ruhiger. Eine schwarz-weiße, vor 3 Monaten operierte Ratte (♂), die merklich in der Entwicklung zurückgeblieben war, hatte sich bisher ziemlich lebhaft, aber nicht gerade auffallend verhalten. Plötzlich läuft sie pfeilschnell herum, springt ca. 20 cm hoch, fällt hin, alle Beine steif von intensivsten Streckkrämpfen. Keine Atmung mehr. Es wird sofort Luft zugelassen. Bis aber der Druck so hoch ist, daß die Glocke abgehoben werden kann, ist das Tier, das keinen Atemzug mehr machte, verendet. Alle Muskel sind steif, künstliche Atmung erfolglos. Bei Versuch 4 trat der Anfall schon auf, als der Druck kaum 460 mm erreicht hatte, 3 bis 4 Minuten nach Beginn des Versuches. Die weiße, vor 4 Monaten operierte und normal entwickelte Ratte (♂) läuft plötzlich mehrere Male sehr schnell um den Glasrand herum, fällt zappelnd hin, streckt alle Beine steif von sich und bleibt ohne Atmung liegen, als ob sie in einen elektrischen Stromkreis gekommen wäre. Es wird schnell Luft eingelassen. Bei 600 mm treten leise Atembewegungen auf, die rasch zunehmen. Die Glocke wird nach etwa 1 Minute abgehoben. Das Tier ist noch ganz steif, läßt sich starr wie eine Holzfigur auf den 4 schräg weggespreizten Beinen aufstellen, atmet aber und erholt sich in wenigen Minuten. — In einem anderen Versuche fiel auch ein unoperiertes Tier nach lebhaftem Herumlaufen hin und blieb zappelnd auf der Seite liegen. (Druck bei 500 mm.) Es erholte sich aber sofort wieder (der Lufthahn war ganz aufgemacht worden), und ertrug die folgende Evakuierung bis 230 mm ohne besondere Erscheinungen.

Versuch 5.

2 männliche Katzen, ca. 7 Monate alt, Geschwister, die eine vor 5 Monaten operiert und nachkontrolliert. Die Tiere haben bequem in der Glocke Platz, sitzen aufmerksam nebeneinander. Beginn 10ʰ 47′. 10ʰ 49′ 640 mm. Beide Tiere sind sichtbar beunruhigt, gehen hin und her. 10ʰ 50′ 570 mm. 10ʰ 51½ 500 mm. Die Tiere beruhigen sich, schauen aufmerksam heraus. 10ʰ 54′ 400 mm. 10ʰ 55′ 350 mm. Die operierte Katze wird stärker unruhig; auch die andere dreht sich um. 10ʰ 57′ 300 mm. Atmung wird beschleunigt. Die operierte macht Anstrengungen, herauszukommen. Die normale läßt Urin. 267 mm. Die operierte legt sich hin, atmet sehr mühsam, streckt die Zunge heraus. Nase wird bläulich; sie legt sich über die Kontrolle. Diese legt sich hierauf gleichfalls hin. Es wird wieder Luft eingelassen bis auf 380 mm, dann wieder geschlossen. Atmung bei der operierten 200 pro Minute, bei der Kontrolle wechselnd zwischen 50 bis 100. Die operierte macht einen schwer kranken Eindruck, reißt den Mund auf. Die Kontrolle ist sichtlich weniger schlimm daran. Nach 10 Min. wird Luft zugelassen. Beide Tiere erholen sich rasch.

Wir sehen von der Mitteilung weiterer Protokolle, die ganz gleichartige Resultate ergaben, ab und erwähnen nur, daß wir im ganzen 15 Versuche an 19 schilddrüsenlosen und ebenso vielen normalen Ratten ausgeführt haben; daß die Tiere teils vor 10 bis 21 Tagen, teils vor 3 bis 4 Monaten operiert, verschiedenen Alters und Geschlechtes, verschieden ernährt (zum Teil vegetarisch, zum Teil mit Fleisch usw.) waren, so daß es kaum möglich sein dürfte, unsere abweichenden Ergebnisse auf Besonderheiten und Unzulänglichkeiten unseres Versuchsmaterials zu schieben. Daß individuelle Unterschiede im Temperament und dementsprechend auch im Verhalten der Tiere bei Luftmangel vorkommen, wurde schon erwähnt; diese zeigen sich aber ebenso bei den operierten wie unter den normalen, wenn auch die schilddrüsenlosen Tiere im allgemeinen (aber nicht immer, s. o.) etwas träger, apathischer zu sein pflegen. Vielleicht ist zum Teil auf diesen Umstand die vermeintliche Unterempfindlichkeit, die Asher und Streuli gesehen haben, zurückzuführen.

Nachdem dadurch festgestellt war, daß die erste und wesentliche Tatsache in der Arbeit Streulis nicht zutrifft, schien es überflüssig, die Versuche mit entmilzten Ratten nachzumachen. Ich möchte nur darauf hinweisen, daß das normale Verhalten der sowohl milz- wie schilddrüsenlosen Tiere, die

auch Asher und Streuli verzeichnet haben, wohl als ein weiterer Beweis gelten könnte, daß tatsächlich die Schilddrüsenentfernung bei der gewählten Versuchsanordnung belanglos ist.

Ich wende mich nun zu einer kurzen Kritik der zweiten Arbeit über den Thrombingehalt des Serums und Knochenmarks. Es ist eine in der Gerinnungsphysiologie genügend bekannte Tatsache, daß der Thrombingehalt des Blutserums beim selben Tiere von einer Entnahme zur andern stark wechseln kann. Wird ein Tier aus der Carotis entblutet und das ausfließende Blut der Reihe nach in Gläschen aufgefangen, so zeigt sich, daß die ersten Proben ein viel thrombinärmeres Serum liefern als die letzten, schneller gerinnenden Proben. Durch den Blutverlust wird aus den Körpersäften Flüssigkeit ins Blut gezogen und damit gleichzeitig Abbauprodukte, die die Thrombinbildung begünstigen. Fangen wir das ganze Blut eines Tieres in einem Gefäß auf, so erhalten wir ein Mischserum, das je nach der Schnelligkeit der Entblutung (die von der Größe der Carotis, vom früheren oder späteren Absinken des Blutdruckes, von technischen Einzelheiten usw. abhängt) mehr oder weniger ins Blut eingetretene Gewebssäfte enthält; es muß deshalb auch je nach diesen Umständen mehr oder weniger Thrombin enthalten. Wenn wir diesen Gehalt titrieren, bestimmen wir damit eine fast ganz zufällige Größe, aus der kaum etwas geschlossen werden kann; am wenigsten darf aber erwartet werden, daß damit der Thrombingehalt des zirkulierenden Blutes gemessen worden sei, denn das Thrombin entsteht ja erst bei der Gerinnung und ist im strömenden Blute noch gar nicht vorhanden (von Spuren abgesehen). Es ist deshalb auch ganz unrichtig, wenn Yamada schreibt, daß die Bildung des Thrombins eine „Funktion" des Knochenmarkes sei, als ob es sich hierbei um eine in jeweils bestimmter Menge im Körper kreisende Substanz handle! Die gleichen Einwände gelten gegen die Untersuchungen an Knochenmarkextrakten. Daß Schlüsse aus derartigen Bestimmungen nur zu Irrtümern führen können, zeigen am besten die eigenen Protokolle Yamadas. Er hat in Tabelle I^{II} bis III^{II}, S. 315 bis 317, die Knochenmarkextrakte aus schilddrüsenlosen Kaninchen wirksamer gefunden als diejenigen der Kontrolltiere (Gerinnung des Fibrinogens nach 123 bis 136 Minuten gegenüber 153 bis 250 Minuten). In Tabelle

VII bis IX, S. 323 bis 323, ergaben dagegen die Kontrolltiere viel aktivere Extrakte (117 bis 127 Minuten) als die Kontrollen der ersterwähnten Versuche. Hätte der Autor also in den ersten 3 Versuchen zufällig die Tiere der letzten Serie zur Kontrolle gewählt (die Kontrollen waren ja jeweils beliebige andere Kaninchen), so wäre der von ihm behauptete Unterschied zwischen schilddrüsenlosen und normalen Tieren gar nicht herausgekommen, ja er hätte sogar auf das gerade Gegenteil schließen müssen!! Daß es mit derartigen Versuchen nicht möglich ist, irgendwelche Schlüsse auf Funktionen der Schilddrüse oder der Milz zu ziehen, dürfte hiermit wohl erwiesen sein.

Gegen die dritterwähnte Arbeit kann ich, da ich die Versuche nicht selbst nachgeprüft habe[1]), nur den allerdings sehr berechtigten Einwand erheben, daß die Zahl der Versuchstiere eine viel zu geringe ist, um die von den Autoren gezogenen Folgerungen zu gestatten. Die Steigerung der Zahl der Erythrocyten, die z. B. nach Milzexstirpation eintrat, wurde nur bei 2 Tieren festgestellt und hielt sich hier innerhalb solcher Werte, die noch in die physiologischen Schwankungen fallen oder sie nur ganz wenig überschreiten (man vergleiche mit Kontrolle, Tabelle I, und mit Versuchstier 7, S. 161, vor der Operation). Aus diesen Veränderungen, die die Autoren selbst bei der ersten Besprechung der Protokolle als geringfügige bezeichnen, glauben sie sich aber im folgenden berechtigt, von einer „Reizung der Stätten der Blutbildung" zu sprechen und diese von nun an als eine fest erwiesene Tatsache für ihre Theorien zu verwenden. Die Versuche mit Blausäure wurden je an einem einzigen normalen Tiere, einem entmilzten und einem schilddrüsenlosen Tiere gemacht, woraus dann eine Gesetzmäßigkeit hinsichtlich dieser Organe im Sinne von Hemmungen und Reizungen verschiedener Systeme konstruiert wird. Dasselbe gilt von den Versuchen mit Phenylhydrazin, wo ebenfalls auf Grund je eines Tierversuches und bloß aus der Tatsache, daß bei dem einen, schilddrüsenlosen Tiere der normale Erythrocytenwert erst etwa 10 Tage später erreicht wurde als bei dem normalen resp. milzlosen, auf eine „starke Hemmung des Knochenmarkes" geschlossen wird. Ein viertes Kaninchen dieser Serie, dem Milz und Thyreoidea entfernt worden waren, verhielt sich wie das normale und das milzlose. Daraus ergab sich für die Autoren aber nicht die Notwendigkeit, die vorhergehenden Versuche nachzuprüfen, der Befund wurde vielmehr, da das Ergebnis zu der Theorie stimmte, sofort als weitere Stütze für die Theorie verwertet.

Hiermit dürfte nachgewiesen sein, daß die in den drei

[1]) Man vergleiche aber die Arbeit von F. Port, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 73, 251.

besprochenen Arbeiten von Asher aufgestellten Hypothesen eines Antagonismus von Milz und Schilddrüse in ihren experimentellen Grundlagen anfechtbar sind und daher so lange als unbegründet gelten müssen, als nicht bessere Beweise für dieselben vorliegen.

Sieht man die Literatur über die Schilddrüse und die ganze innere Sekretion durch, so trifft man auf eine große Zahl ähnlicher, ungenügend gestützter Behauptungen, die aber leider nur zum kleinsten Teil widerlegt wurden und deshalb endlos von Buch zu Buch weitergeschleppt werden. Soll unsere Fachliteratur dadurch nicht an Wert verlieren, so ist es notwendig, daß das als unrichtig Erkannte stets sofort wieder eliminiert werde. Dies möchte ich zur Rechtfertigung für diese Entgegnung gesagt haben, an deren Stelle ich gewiß lieber eine Bestätigung der kritisierten Befunde gesetzt hätte.

Über den Einfluß des Säuregrades der Milch auf die Geschwindigkeit der Abtötung der Peroxydase durch Erhitzen.

Von

A. Bouma und **W. van Dam.**

(Aus der Chemischen Abteilung der Reichs-Landw. Versuchsstation Hoorn [Holland].)

(Eingegangen am 25. September 1918.)

Mit 1 Figur im Text.

In einer sehr sorgfältigen Arbeit[1]) zeigte van Eck, daß die Vernichtung der Peroxydase der Milch beim Erhitzen stattfindet nach der bekannten Gleichung erster Ordnung:

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A - x},$$

in welcher A die Anfangskonzentration und x die nach der Zeit t vernichtete Menge der Peroxydase bedeuten. K stellt die Reaktionsgeschwindigkeit vor. van Eck fand für K bei

70,3°	70,8°	71,45°	72,25°
0,0165	0,0276	0,0462	0,0792

Aus diesen Zahlen geht sehr deutlich der große Einfluß der Temperatur hervor. Zilva[2]) studierte später in derselben Weise diesen Einfluß und bestimmte mittels der bekannten Formel von van't Hoff-Arrhenius den Temperaturkoeffizient für diese Reaktion, den er zu 2,23 pro Grad feststellte. Wir können also für jede Temperatur innerhalb des engen Gebietes, um das es sich hier handelt, den Wert von K berechnen. Führen wir diesen Wert in obenstehende Gleichung ein, so

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 22, 393, 1911.

[2]) The biochem. Journ. 8, 1914.

leuchtet es ein, daß wir weiter t berechnen können für jeden Wert von x. Bedenkt man dabei, daß durch die Storchsche Reaktion mit Wasserstoffperoxyd und Paraphenylendiamin 1 % der ursprünglichen Menge des Enzyms noch kaum angezeigt wird, so ist es klar, daß man berechnen kann, während wie langer Zeit die Milch auf eine bestimmten Temperatur erhitzt werden muß, damit die Storchsche Reaktion versagt. Man braucht nur für A den Wert 100 und für x 99 zu setzen, um die Zahl für t berechnen zu können. Tabelle I gibt für die Temperaturen von 70° bis 80° die Werte von K, die sowohl aus den Zahlen van Ecks als aus denjenigen Zilvas berechnet wurden, und im 4. Stabe die Zeiten, nach denen das Enzym praktisch als abgetötet betrachtet werden kann.

Tabelle I.

Temperatur	K nach Zilva	K nach van Eck	Vernichtung von 99 % der Peroxydase nach
70°	0,0133	0,0130	150 Min.
71°	0,0297	0,0290	66 „
72°	0,0663	0,0648	30 „
73°	0,1480	0,1450	13½ „
74°	0,3300	0,3230	6 „
75°	0,7370	0,7230	2½ „
76°	1,643	1,614	1 „ 12 Sek.
77°	3,663	3,607	30 Sek.
78°	8,169	8,062	14 „
79°	18,328	18,019	6 „
80°	40,720	40,400	2½ „

Aus dieser Tabelle geht erstens hervor, daß die Werte für K, die aus den Beobachtungen der beiden genannten Forscher abgeleitet wurden, ziemlich genau einander gleich sind. Zweitens sind die Zahlen des letzten Stabes in guter Übereinstimmung mit der praktischen Erfahrung. Für die höchsten Temperaturen haben zwar die Ziffern nur theoretischen Wert, weil immer während des Anwärmens schon ein Teil des Enzyms vernichtet wird, sie zeigen aber deutlich, daß eine noch so schnell auf 80° erwärmte Milch im allgemeinen die Blaufärbung nach Storch nicht mehr zeigen wird, ganz so, wie die Erfahrung lehrt. Die beiden genannten Forscher weisen darauf hin, daß der Säuregrad der Milch nicht in Betracht gezogen wurde, obwohl schon Storch fand, daß die Peroxydase bei einer niedrigeren Temperatur abgetötet wird, je nachdem der Säuregrad

des Mediums höher ist. Zilva versuchte den Einfluß des reellen Säuregrades zu bestimmen. Er äußert sich wie folgt[1]:

„Experiments were instituted with the object of studying the effect of acidity and alcalinity on the rate of inactivation of peroxydase in milk. The H-ion concentration of the milk was determined by the gas-chain method. Unfortunately the determinations of [H] concentration in a medium like milk is fraught with many technical difficulties, and the results obtained, though definitely showing the general effect of acidity and alcalinity, are not exact enough for publication in detail. The result arrived at is that a small increase in acidity retards, and in alcalinity accelerates the rate of inactivation. Thus the addition of such a quantity of lactic acid as changed the P_H of the milk from about 6,57 to 5,75 brought down the constant at 70° from 0,0133 to 0,0109, while the addition of potash which changed the P_H to about 8,26 increased the rate of inactivation at the same temperature to such an extent, that the peroxydase content of the milk came down to 2 % in the preliminary heating."

Auf den ersten Anblick wunderten wir uns über diesen Passus, soweit es die Schwierigkeit anlangt, die man bei der Bestimmung der [H] in der Milch nach der Gaskettenmethode empfinden würde. Haben doch verschiedene Forscher dieselbe als sehr brauchbar für Milch befunden. Alsbald zeigte sich aber, daß sich bei den höheren Temperaturen, bei denen gearbeitet werden mußte, nämlich bei $\pm$ 70°, erhebliche Störungen zeigen können, wenn nicht ganz frische Milch zu den Messungen verwendet wird, die möglichst rein gewonnen wird. Aus den drei von Zilva gegebenen Zahlen folgt, daß die Steigung von C_H von $0{,}27 \times 10^{-6}$ bis $1{,}75 \times 10^{-6}$ normal die Reaktionsgeschwindigkeit von 0,0133 zu 0,0109 verminderte, während bei $C_H = 5{,}5 \times 10^{-9}$ normal, bei welcher Acidität Phenolphthalein noch kaum gefärbt wird, schon durch das Anwärmen etwa 98 % der ursprünglichen Enzymmenge vernichtet wurde. Diese wenigen Zahlen Zilvas, aus denen mit Wahrscheinlichkeit der starke Einfluß der Hydroxylionen hervorging, ließen ein näheres Studium dieser Sache als wünschenswert erscheinen.

I. Die Bestimmung des reellen Säuregrades der Milch bei 70°.

Die Messungen wurden nach der Gaskettenmethode ausgeführt. Als Ableitungselektrode verwendeten wir die von

[1]) l. c.

Michaelis[1]) für höhere Temperaturen empfohlene Acetatelektrode. Die Wasserstoffionenkonzentration des Acetatgemisches, die bei Zimmertemperatur $2{,}38 \times 10^{-5}$ normal beträgt, wurde bei 70° gemessen gegen $^{n}/_{100}$- und $^{n}/_{1000}$-HCl. Die Elektrodengefäße waren aus Jenaglas angefertigt; der Gasraum war klein in bezug auf das ganze Volumen. Die Spannungsdifferenz des Wasserstoffs in den beiden Elektroden infolge der verschiedenen Dampftensionen in den beiden Gasräumen wurde vernachlässigt; sie hat bekanntlich nur geringen Einfluß auf die zu messende Potentialdifferenz. Obwohl die Gefäße vor jedem Versuch etwa eine halbe Stunde ausgedampft wurden, meinten wir bei fortgesetzter Beobachtung eine langsame Einwirkung auf das Glas konstatieren zu können bei dieser Temperatur. Immerhin konnten genügend genaue Messungen ausgeführt werden. Zwei Bestimmungen mit $^{n}/_{1000}$-HCl lieferten für das Acetatgemisch bei 70° 2,52 und $2{,}65 \times 10^{-5}$ normal. Eine dritte Messung, die $1^{1}/_{2}$ Jahre später mit einer anderen Apparatur gegen $^{n}/_{100}$-HCl ausgeführt wurde, gab wieder den Wert $2{,}65 \times 10^{-5}$. Unseren weiteren Berechnungen haben wir dann den Wert $2{,}6 \times 10^{-5}$ zugrunde gelegt.

Beim Experimentieren mit Milch zeigten sich alsbald, wie schon oben bemerkt wurde, sehr unangenehme Störungen. Es konnte nicht nur keine konstante Einstellung am Elektrometer erhalten werden, sondern beim Tasten nach dem Nullstand am Apparat wurden so unmögliche Werte gefunden, daß bezweifelt werden mußte, ob überhaupt in dieser Weise brauchbare Resultate zu erhalten wären. Bisweilen wurde während einiger Minuten eine konstante Einstellung beobachtet; dann trat aber plötzlich eine Änderung ein, und nicht selten verschwand der Meniscus ganz aus dem Gesichtsfelde. Die Erscheinung erinnerte lebhaft an „Vergiftung“ der Elektrode. Als wir dann aber die Versuche wiederholten mit ganz frischer, möglichst sauber gewonnener Milch, war die Störung aufgehoben, und sehr gut brauchbare Messungen konnten ausgeführt werden. In einzelnen Fällen änderte sich das Potential noch ein wenig während der Messung, aber nicht mehr als ein Paar m. V. in 1 bis 2 Stunden.

[1]) Die Wasserstoffionenkonzentration. S. 148.

Auch in diesen ungünstigen Fällen konnten also noch ziemlich sichere Zahlen festgestellt werden für die H-Ionenkonzentration.

Vor jeder Messung wurden die Elektroden von neuem platiniert. Die großen Abweichungen beim Arbeiten mit nicht ganz frischer Milch machten den Eindruck, daß man vielleicht in dieser Weise Änderungen in der Milch auffinden kann, die durch keine der bisher bekannten Untersuchungsmethoden aufgedeckt werden können.

Bezüglich der gefundenen C_H-Werte für Milch kann bemerkt werden, daß sie bei 70° bedeutend höher sind als bei Zimmertemperatur. Schon vor einigen Jahren hat einer von uns darauf hingewiesen[1]), daß der reelle Säuregrad beim Erhitzen wächst, während der Titer bekanntlich abnimmt. In Tabelle II findet man die Zahlen, welche für sechs Milchmuster bei 18° und bei 70° gefunden wurden.

Tabelle II.

C_H bei 18°	C_H bei 70°
$2{,}06 \times 10^{-7}$ normal	$5{,}42 \times 10^{-7}$ normal
$1{,}82 \times 10^{-7}$ „	$4{,}86 \times 10^{-7}$ „
$1{,}83 \times 10^{-7}$ „	$4{,}28 \times 10^{-7}$ „
$1{,}76 \times 10^{-7}$ „	$5{,}06 \times 10^{-7}$ „
$1{,}65 \times 10^{-7}$ „	$4{,}60 \times 10^{-7}$ „
$1{,}99 \times 10^{-7}$ „	$5{,}13 \times 10^{-7}$ „

Beim Erwärmen auf 70° wurde die Wasserstoffionenkonzentration also $2^1/_2$- bis 3 mal größer. Diese Vermehrung spielt wahrscheinlich auch eine Rolle bei der sogenannten „Kochprobe“.

II. Die Bestimmung der Abtötungsgeschwindigkeit der Peroxydase bei verschiedenen C_H-Werten.

Die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante wurde in nahezu derselben Weise ausgeführt wie bei den Versuchen van Ecks und Zilvas. Die Milch wurde in einem verzinnten Kupfergefäß schnell auf die gewünschte Temperatur gebracht und in den Thermostat gestellt. Sowohl die Milch als die Thermostatflüssigkeit wurde regelmäßig gerührt mittels eines Elektromotors. Die Temperaturschwankungen wurden während des Versuchs an einem Beckmann-Thermometer kontrolliert.

[1]) Milchw. Centralbl. 5, 154, 1909.

Nach genau gemessenen Zeiten wurden kleine Mengen der Milch schnell herauspipettiert und in ein vorher in Eis gestelltes Reagensrohr ausgeblasen. Diese Operation konnte in 25 Sekunden beendigt werden. Die Mengen des noch nicht abgetöteten Enzyms in den erhaltenen Röhrchen wurden nach van Eck in folgender Weise gemessen. In einer Reihe von Reagensröhrchen wurden für jeden Versuch Gemische von sterilisierter und roher Milch in der Weise gebracht, daß die Röhrchen regelmäßig steigende Mengen letzterer erhielten. Beim Versetzen mit Wasserstoffsuperoxyd und Paraphenylendiamin wurde dann eine Farbenskala erhalten, mit der die erhitzten Proben verglichen wurden. Tabelle III gibt die Vergleichsskala, die bei den meisten Versuchen verwendet wurde.

Tabelle III.

Nr.	Roh	Erhitzt	Nr.	Roh	Erhitzt
1	0,50	9,50	11	3,00	7,00
2	0,75	9,25	12	3,50	6,50
3	1,00	9,00	13	4,00	6,00
4	1,25	8,75	14	4,50	5,50
5	1,50	8,50	15	5,00	5,00
6	1,75	8,25	16	5,50	4,50
7	2,00	8,00	17	6,00	4,00
8	2,25	7,75	18	6,50	3,50
9	2,50	7,50	19	7,00	3,00
10	2,75	7,25	20	7,50	2,50

Die Messung der Reaktionsgeschwindigkeiten geschah bei 70,55°. Die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration der Milch fand statt durch Zusatz von Milchsäure oder Natronlauge[1]). Die Milch wurde von der mit der hiesigen Versuchsstation verbundenen Versuchswirtschaft bezogen. Sie stammte bei allen Versuchen von denselben Kühen. Während der Bestimmung der Konstante K wurde C_H elekrometrisch gemessen. Die folgenden Tabellen enthalten die gefundenen Zahlen. Die Zahlen für $A - x$ bedeuten Prozente der ursprünglich vorhandenen Enzymmenge.

Tabelle IV.

Versuch 1.

96 ccm Milch + 4 ccm $^n/_4$-Milchsäure. $C_H = 2{,}03 \times 10^{-6}$ normal. Das Thermometer schwankte um 0,04°.

[1]) Daß die zugesetzte Säure oder Lauge vor Ausführung der Storchschen Reaktion wieder abgestumpft wurde, ist wohl selbstverständlich.

t (Minuten)	$A - x$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A - x}$
0	55,00	—
15	42,50	0,0075
30	28,75	0,0094
45	20,00	0,0098
65	12,50	0,0099
85	8,75	0,0094
		Mittel 0,0092

Versuch 2.

96 ccm Milch + 4 ccm $^n/_4$-Milchsäure. $C_H = 2{,}04 \times 10^{-6}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,04°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	67,50	—
15	45,00	0,0111
30	35,00	0,0095
45	26,20	0,0091
65	20,00	0,0081
85	13,70	0,0081
		Mittel 0,0092

Versuch 3.

96 ccm Milch + 4 ccm $^n/_4$-Milchsäure. $C_H = 1{,}70 \times 10^{-6}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,04°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	70,00	—
15	47,50	0,0112
30	35,00	0,0100
46	22,50	0,0107
66	15,00	0,0101
86	10,00	0,0098
		Mittel 0,0103

Mittel — $K = 0{,}0096$.

Diese Zahlen geben zu folgenden Bemerkungen Veranlassung. Wenn man die mit diesen Versuchen verbundenen technischen Schwierigkeiten in Rechnung zieht, so sind die erhaltenen Werte als ziemlich gut zu betrachten. Beim letzten Versuch (3) war C_H etwas niedriger als in den beiden ersten Versuchen, und deshalb ist es eigentlich nicht gestattet, das Mittel aus den drei Serien zu nehmen. Der hierdurch gemachte Fehler ist aber nicht größer als der Beobachtungsfehler selbst. Hätten wir bei Wiederholungen der Versuche die Milch auf genau dieselben [H]-Konzentrationen bringen wollen, so wäre eine gesonderte Serie Messungen in jedem Falle nötig gewesen; demzufolge wäre es aber nicht möglich gewesen, einen Versuch am selben Tage zu beenden.

Tabelle V.

98 ccm Milch + 2 ccm $^{n}/_{4}$-Milchsäure. $C_H = 1,15 \times 10^{-6}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,04°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	63,50	—
15	47,50	0,0097
31	32,50	0,0097
46	23,75	0,0095
66	15,25	0,0091
86	11,25	0,0089
	Mittel	0,0094

Die Tatsache, daß der Säuregrad von 2×10^{-6} auf $\pm 1 \times 10^{-6}$ fiel, hat offenbar noch keinen merkbaren Einfluß auf den Wert von K ausgeübt. Selbst die Zahl von Tabelle VI für Milch ohne irgendeine Zugabe, deren C_H zu $0,54 \times 10^{-6}$ normal gefunden wurde, weicht nicht von obenstehenden Werten ab.

Tabelle VI.

Milch ohne Zugabe. $C_H = 5,42 \times 10^{-7}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,05°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	47,50	—
15	30,00	(0,0133)
30	22,50	0,0108
45	17,50	0,0096
65	13,70	0,0083
83	10,00	0,0082
	Mittel	0,0092

Aus den Zahlen der Tabellen IV, V und VI kann also geschlossen werden, daß die Bildung von soviel Milchsäure in der Milch, daß sie sich gerade noch pasteurisieren läßt, kaum einen Einfluß ausübt auf die Vernichtungsgeschwindigkeit der Peroxydase.

In den folgenden Versuchen wurde mittels Natronlauge alkalisiert.

Tabelle VII.

Versuch 1.

$99^1/_2$ ccm Milch + $^1/_2$ ccm n-Natronlauge. $C_H = 2,37 \times 10^{-7}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,05°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	42,25	—
7	30,00	(0,0216)
14	25,00	0,0165
21	21,25	0,0143
31	17,50	0,0124
41	13,75	0,0120
51	10,00	0,0123
	Mittel	0,0134

Versuch 2.

$99^1/_2$ ccm Milch + $^1/_2$ ccm n-NaOH. $C_H = 2,37 \times 10^{-7}$ normal.
Das Thermometer schwankte um ca. 0,03°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	55,00	—
7	42,50	0,0160
14	35,00	0,0140
21	27,50	0,0143
31	22,50	0,0125
41	18,75	0,0114
51	15,00	0,0110
	Mittel	0,0132

Obwohl die Zahlen für K in diesen beiden Versuchen weniger konstant ausfielen, so ist doch eine Steigerung nicht zu leugnen. Aus Tabelle VIII geht dies noch deutlicher hervor.

Tabelle VIII.

99 ccm Milch + 1 ccm n-NaOH. $C_H = 1,0 \times 10^{-7}$ normal.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	52,50	—
5	40,00	0,0236
10	28,75	0,0262
15	21,25	0,0262
20	17,50	0,0238
30	10,00	0,0240
40	6,25	0,0231
	Mittel	0,0245

Diese Zahlen lassen nicht den geringsten Zweifel darüber, daß die alkalische Reaktion bzw. die Hydroxylionen den in Rede stehenden Prozeß beschleunigen; hat sich doch der Wert von K in diesem Falle nahezu verdoppelt. Beim Zusatz von $1^1/_2$ ccm n-Lauge war die Bestimmung von K schon ziemlich schwierig; Tabelle IX gibt noch einige Zahlen, die sich hierauf beziehen.

Tabelle IX.

Versuch 1.

$98^1/_2$ ccm Milch + $1^1/_2$ ccm n-NaOH. $C_H = 0,33 \times 10^{-7}$ normal [1])

t (Minuten)	$A - x$	K
0	23,75	—
5	12,50	0,055
10	7,50	0,050
	Mittel	0,052

[1]) Die Einstellung war bei diesem Versuch nicht so konstant als bei den vorigen Messungen, weshalb der Wert etwas unsicher ist. Er ist vielleicht ein wenig höher, wird aber gewiß $0,4 \times 10^{-7}$ nicht überschreiten.

Versuch 2.

$98^1/_2$ ccm Milch + $1^1/_2$ ccm n-NaOH. $C_H = 0{,}33 \times 10^{-7}$ normal[1]).

t (Minuten)	A — x	K
0	42,50	—
3	28,00	0,060
6	21,75	0,048
9	15,00	0,050
12	11,25	0,048
17	7,50	0,044
	Mittel	0,050

Es leuchtet ein, daß bei dem schnellen Verlauf der Reaktion, wie Tabelle IX zeigt, die Schwierigkeiten noch größer sind als vorher. Zieht man dies in Rechnung, so sind auch diese Zahlen noch als sehr gut stimmend zu betrachten.

In Tabelle X sind die bisher erhaltenen Resultate vereinigt.

Tabelle X.

Zusammensetzung des Gemisches	$C_H \times 10^7$	K
96 ccm Milch + 4 ccm $^n/_4$-Milchsäure	20,40	0,0092
98 „ „ + 2 „ „	11,50	0,0094
100 „ „	5,40	0,0092
$99^1/_2$ „ „ + $^1/_2$ „ n-NaOH	2,37	0,0133
99 „ „ + 1 „ „	1,00	0,0245
$98^1/_2$ „ „ + $1^1/_2$ „ „	0,33	0,0515

In nachstehender Kurve sind diese Zahlen graphisch dargestellt.

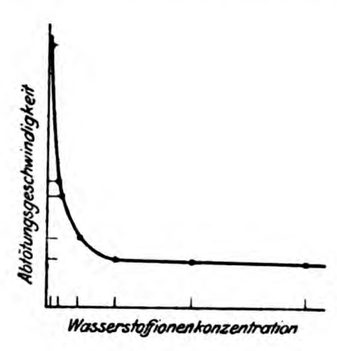


Fig. 1.

1) Die Bestimmung von C_H ist mißlungen. Der Wert wurde demjenigen des ersten Versuchs gleichgesetzt. Er wird nämlich nur wenig davon abweichen, wie aus vier Messungen hervorging, die mit alkalisierter Milch von einigen Kühen an vier verschiedenen Tagen angestellt wurden.

Schließlich seien noch einige Zahlen mitgeteilt, die sich auf Geschwindigkeitsbestimmungen nach Zugabe von Ammoniak statt Natronlauge beziehen. Wenn es nämlich die Hydroxylionen sind, die die Vernichtung der Peroxydase beschleunigen, so konnte erwartet werden, daß die Werte von K bei Verwendung einer anderen Base als NaOH mit der Kurve zusammenfallen.

Tabelle XI gibt das Resultat einer solchen Bestimmung.

Tabelle XI.

99 ccm Milch + 1 ccm n-NH_4OH. $C_H = 1{,}1 \times 10^{-7}$ normal. Das Thermometer schwankte um ca. 0,02°.

t (Minuten)	$A - x$	K
0	80,00	—
5	62,00	0,0221
10	50,00	0,0202
15	37,50	0,0219
20	27,50	0,0232
30	20,00	0,0201
40	12,50	0,0201
	Mittel	0,0213

Bei Wiederholung des Versuchs wurde $K = 0{,}0211$ gefunden. Dieser Wert fällt gut in die Kurve, und es kann also geschlossen werden, daß es wohl sehr wahrscheinlich ist, daß die Hydroxylionen hier die Hauptrolle spielen.

Betrachten wir Tabelle X etwas näher, so sieht man, daß Zugabe von Säure zur Milch kaum, von Alkalien dagegen starken Einfluß ausübt auf die Geschwindigkeit der Abtötung der Peroxydase beim Erhitzen, wie es schon früher von Zilva[1]) dargetan wurde. Die Wirkung der Alkalien zeigt sich noch deutlicher, wenn man bedenkt, daß Milch mit dem reellen Säuregrade $0{,}33 \times 10^{-7}$ normal ($1^1/_2$ ccm n-NaOH) noch gar keine Rosafärbung mit Phenolphthalein zeigt; diese Färbung entsteht erst bei $C_H = \pm 1 \times 10^{-9}$ normal. Wird der Milch noch mehr als $1^1/_2$ ccm n-NaOH pro 100 ccm zugesetzt, so verläuft die Reaktion bei 70,55° so schnell, daß die Geschwindigkeit nicht mehr zu messen ist.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß studiert, den die Wasserstoff- bzw. Hydroxylionenkonzentration der Milch auf die Geschwindigkeit

[1]) l. c.

der Abtötung der Peroxydase bei 70,55° ausübt. Es wurde gefunden, daß die elektrometrische Bestimmung des Säuregrades der Milch bei 70° nur dann ausführbar ist, wenn man mit völlig frischer, sehr sorgfältig gewonnener Milch arbeitet. Bei 70° zeigten sich die C_H-Werte um $2^1/_2$- bis 3 mal größer als bei Zimmertemperatur. Zugabe von soviel Milchsäure zur Milch, daß beim Pasteurisieren noch gerade keine Gerinnung eintrat, hatte keinen wahrnehmbaren Einfluß auf die Geschwindigkeitskonstante der Enzymvernichtung bei der genannten Temperatur. Durch Zusatz von Lauge oder Ammoniak wurde die Reaktionsgeschwindigkeit sehr stark beeinflußt. Für reine Milch, deren $C_H = 5{,}4 \times 10^{-7}$ normal gefunden wurde, war die Reaktionskonstante $K = 0{,}0092$; durch Zusatz von $1^1/_2$ % n-NaOH fanden wir $C_H = 0{,}33 \times 10^{-7}$ normal und $K = 0{,}051$. In dieser Milch, die Phenolphthalein noch bei weitem nicht rosa färbte, wurde das Enzym also mehr als 5 mal schneller vernichtet als in dem nicht alkalisierten Medium. Die erhaltenen Resultate wurden zur besseren Übersichtlichkeit in einer Kurve aufgezeichnet.

Beitrag zur Methodik der Reststickstoffbestimmung im Blute.

Von

B. Albert.

(Aus dem Laboratorium des Sonderlazaretts für Nierenkranke Mannheim.)

(Eingegangen am 30. September 1918.)

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

Zu den wichtigsten und meistausgeführten chemischen Blutanalysen Nierenkranker gehört wohl unstreitig die sogenannte Reststickstoffbestimmung (kurz: Rest-N oder R.-N), nach Strauß auch „Retentions-N“, oder nach Bang „Extraktiv-N“ genannt. Man versteht darunter bekanntlich den nach der vollkommenen Enteiweißung zurückgebliebenen Rest vom Gesamt-N des Blutes bzw. des Serums, deshalb sehr oft auch als „Nichteiweiß- oder Nichtprotein-N“ bezeichnet.

Die Wichtigkeit der Rest-N-Bestimmung geht daraus hervor, daß es dem Arzte am Krankenbette sehr oft trotz zahlreicher Symptome nicht möglich ist, mit Bestimmtheit die richtige Diagnose, z. B. zwischen „echter Urämie und pseudourämischen Zuständen“, zu stellen und die eventuell erforderliche Therapie zu befolgen ohne Feststellung der Niereninsuffizienz durch Bestimmung des Rest-N.

Der Rest-N selbst setzt sich nach Bang, rein methodisch betrachtet, aus zwei Hauptfraktionen: dem summarischen Harnstoff-N (Sa.H.-N, ca. 45 bis 60% des Rest-N) und dem summarischen Aminosäure-N (Sa.A.S.-N, ca. 40 bis 55% des Rest-N) zusammen. Ist also z. B. der Rest-N und der Sa.H.-N bekannt, so läßt sich der Sa.A.S.-N aus der Differenz berechnen. Der summarische Harnstoffstickstoff wieder setzt sich aus ca. 98 bis 99% reinem Harnstoffstickstoff, 1 bis 0,5% Ammoniakstickstoff und Spuren von Stickstoff anderer Stoffe (Kreatinin)

zusammen, während der summarische Aminosäurestickstoff aus dem Stickstoff der reinen Aminosäuren (Leucin, Alanin, Glykokoll), dem Harnsäurestickstoff, dem Kreatininstickstoff, Kreatinstickstoff und Indicanstickstoff besteht. Neuerdings hat Feigl auch den „reinen" Aminosäurestickstoff durch Abziehen der anderen Komponenten von dem summarischen Aminosäurestickstoff berechnet, was besonders bei starker Erhöhung von Kreatinin und Harnsäure von Bedeutung sei.

Die Erhöhung des Rest-N kann von all den oben genannten Stoffen herrühren, und zwar in der Weise, daß alle ungefähr gleichmäßig an der Erhöhung beteiligt sind, oder aber, was wohl meist der Fall sein wird, daß die eine der beiden Hauptkörpergruppen allein oder in der Hauptsache die Erhöhung des Reststickstoffs bedingt; so wird bei rein urämischen Erscheinungen die Erhöhung nur durch den Harnstoffstickstoff bedingt, während z. B. bei manchen Lebererkrankungen der Gehalt der Aminosäurekörper des Blutes steigt und damit ebenfalls eine, jedoch von der erstgenannten scharf zu unterscheidende, Erhöhung des Rest-N hervorruft.

Die Makromethoden.

Nach den obigen Ausführungen setzt also jede Rest-N-Bestimmung eine Enteiweißung des Blutes bzw. des Serums voraus. Das zuerst von Strauß gebrauchte Verfahren beruht auf der Hitzekoagulation des 5fach verdünnten Serumeiweißes unter vorsichtigem Zusatz von Essigsäure und folgender Filtration; ähnlich arbeiteten Hohlweg und Meyer unter Benützung von 1%iger Essigsäure und 5%iger Monokaliumphosphatlösung, so daß das Ganze gegen Lackmus sauer, gegen Kongo aber neutral reagierte. Aus obigen kurzen Angaben schon geht hervor, daß beide älteren Methoden der Enteiweißung recht umständlich und ungleichmäßig sind. Ferner haben Bang und andere Nachforscher festgestellt, daß durch die Anwendung der Hitzekoagulation des Eiweißes der Rest-N-Gehalt des Blutes künstlich in die Höhe getrieben wird. In der Tat zeigen die älteren Bestimmungen durchweg zu hohe Normalzahlen. Dieser Mißstand wird vermieden durch die kalt arbeitende Enteiweißung nach Michaelis-Rona mit kolloidem Eisenhydroxyd (Liquor ferri oxychlorati dialysati „Merck")[1].

---

[1]) Neuerdings werden außer dieser Eisenenteiweißungsmethode auch noch andere zuverlässige Enteiweißungsarten angegeben. So empfiehlt Strauß ein Verfahren mittels Methylalkohol und Chlorzink. Ferner wird sehr viel auch, besonders in Frankreich, die Enteiweißung

Nach der Vorschrift von Michaelis-Rona wird das durch Kaliumoxalatzusatz am Gerinnen verhinderte Gesamtblut (20 bis 50 g) 12- bis 14fach mit Wasser in einem Maßzylinder verdünnt und dann tropfenweise mit so viel kolloidalem Eisen versetzt, daß auf 1 g Blut etwa 3 bis 4 g Eisenlösung kommt. Zur vollständigen Ausfällung des Eisens aus dem kolloidalen Zustand wird dann etwas festes Salz, am besten ein Salz der Schwefelsäure (Magnesiumsulfat, Natriumsulfat, Kaliumsulfat) zugegeben, der Grad der Verdünnung abgelesen und sehr stark geschüttelt, worauf man, richtiges Arbeiten vorausgesetzt, beim Filtrieren ein vollkommen klares und eiweißfreies Filtrat erhält, dessen Menge ebenfalls wieder in einem Maßzylinder bestimmt wird.

Bei all diesen vorgenannten „Makro“methoden arbeitet man dann in der Weise weiter, daß das oft recht bedeutende Filtrat von 600 bis 900 ccm und mehr zuerst unter Zugabe von 10 ccm konz. Schwefelsäure eingedampft und dann einer Kjeldahl-N-Bestimmung unterworfen wird, indem der Rückstand in einem Kjeldahl-Kolben unter geringem Zusatz einer Kontaktsubstanz (Kupfersulfat, Quecksilber usw.) verbrannt, d. h. so lange erhitzt wird, bis sämtlicher im Filtrat enthaltener Stickstoff als Ammonsulfat an die fast farblos gewordene (hellgrüne) Schwefelsäure gebunden ist. Durch Zusatz von konzentrierter Lauge im Überschuß wird das gebildete Ammonsalz zersetzt, das freigewordene Ammoniak unter Kochen abdestilliert und in einer Vorlage mit genau gemessener $^{n}/_{10}$-Säure (Schwefelsäure, Salzsäure) aufgefangen. Die durch das übergehende Ammoniak verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-Säure wird durch Zurücktitrieren mit $^{n}/_{10}$-Lauge festgestellt und hieraus unter Zugrundelegung der Formel: 1 ccm $^{n}/_{10}$-Säure entspricht 1,4 mg N, der N-Gehalt berechnet.

Abgesehen davon, daß alle diese „Makro-Rest-N“-Bestimmungen große Mengen Blut (bis zu 50 ccm), viel Zeit und Material benötigen, also für Reihenuntersuchungen direkt unbrauchbar sind, krankt diese Art der N-Bestimmung hauptsächlich daran, daß die in der Analyse zur Bestimmung gelangenden N-Mengen besonders bei niedrigem Rest-N-Gehalt nur wenige Kubikzentimeter einer $^{n}/_{10}$-Säure verbrauchen, so daß eine geringe Menge zuviel oder zu wenig zugesetzter Lauge das Resultat ziemlich stark beeinflußt. Dieses letztere fällt deshalb noch mehr ins Gewicht, als es einen scharfen und einwandfreie Umschläge zeigenden Indicator für die Titration mit $^{n}/_{10}$-Lauge bei Gegenwart von Ammonsalz eigentlich nicht gibt, so daß man sehr oft im Zweifel ist, ob noch weitere Tropfen Lauge zugesetzt werden sollen oder nicht; den besten Beweis dafür liefert die große Anzahl hierfür empfohlener Indicatoren wie Kochenillelösung, Lackmus mit Malachitgrün, Lackmoid, Methylrot, Methylorange, Rosolsäure, Hämatoxylin usw.

des Blutes mittels Trichloressigsäure durchgeführt. Eine weitere als außerordentlich zuverlässig empfohlene Methode beruht auf der Enteiweißung mit 1,5%igem Uranylacetat (Oszacki, Zeitschr. f. klin. Med. 77).

Wenn nun auch nach der Ansicht mancher Ärzte für die „praktische" Beurteilung und Verwendung der Rest-N-Analysenzahlen Differenzen von 5 bis 10 mg und mehr nicht von allzu großer Bedeutung sind, so bleibt für einen gewissenhaften Analytiker doch immer das unangenehme Gefühl, trotz des großen Aufwandes an Zeit und Material nur eine zweifelhafte Analyse geliefert zu haben.

Die Mikromethoden.

Da man nun neuerdings besonders auf die Kenntnis der Vorgänge des intermediären Stoffwechsels im Blute sehr großen Wert legt, Kenntnisse, die man sich zum Teil nur aus vielen systematisch angelegten Reihenuntersuchungen erschließen kann, wozu obige Makromethoden ganz und gar ungeeignet sind, war man bestrebt, Methoden auszuarbeiten, die in kürzerer Zeit mit geringerer Mühe und wenig Ausgangsmaterial Resultate lieferten, die dem von ihnen geforderten Grad von Genauigkeit genügten. (Bang.)

Wenn nun auch in der Hand eines exakt arbeitenden und mit allen Einzelheiten genau vertrauten Analytikers die Bangschen Mikro-Methoden gute Resultate liefern, so ist es für einen weniger chemisch geübten Mediziner doch außerordentlich schwer, die Bangschen Methoden, vor allem die N-Bestimmungen, exakt durchzuführen, besonders wenn man bedenkt, daß eine Verunreinigung durch Luft-N oder durch eine Spur aus dem Papier losgelösten Eiweißes den Rest-N, wie Bang selbst angibt, bis zu 100% und mehr beeinflussen kann.

Während also die oben geschilderten Makromethoden für brauchbare Resultate sehr großer Mengen Blutes bedürfen, verlangen die Mikromethoden nur wenige Tropfen. Nach meiner Meinung ist man nun aber, was speziell die Blutuntersuchungen des Menschen und der größeren Tiere[1]) betrifft, durch die gegebenen Verhältnisse nicht gezwungen, zu sehr in das Extrem der kleinsten Ausgangsmenge zu verfallen und dadurch sich die Durchführung einer Analyse unnötigerweise zu erschweren. Behält man deshalb das Prinzip der exakt arbeitenden Bangschen Mikro-Kjeldahl-N-Destillation und -Titration bei, vergrößert aber die Ausgangsmenge des Blutes bzw. des Serums etwa 10fach auf 1,5 bis 2 g, so wird allerdings die manchmal sowieso nicht ganz zuverlässige Bangsche Papierchenenteiweißung unmöglich; wenn man aber an deren Stelle die obengenannte Eisenenteiweißung (oder eine andere zuverlässige Methode) benützt, so erhält man folgende von mir näher ausgearbeitete Modifikation.

---

[1]) Für die Blutuntersuchungen sehr kleiner Tiere dagegen dürften wohl nur die Bangschen Mikromethoden in Frage kommen.

Modifikation der Mikro-Rest-N-Bestimmung.

A. Enteiweißung.

1. Enteiweißung des Gesamtblutes.

a) In beliebiger Verdünnung.

Etwa 1,5 bis 2 ccm durch Zusatz von einer kleinen Messerspitze feingepulvertem neutralem Kaliumoxalat oder Natriumfluorid am Gerinnen verhindertes Blut werden in einem Wägegläschen exakt gewogen[1]), quantitativ in ein 50 ccm-Maßkölbchen gespült und mit destilliertem Wasser auf etwa 35 bis 40 ccm verdünnt; es werden ca. 8 bis 10 ccm kolloidales Eisenhydroxyd auf einmal hinzugefügt, ca. 1 ccm 10%iger Kaliumsulfatlösung (nicht Magnesium- oder Natriumsulfat) zugegeben, bis zur Marke 50 mit Wasser aufgefüllt und stark geschüttelt. Von dem klaren und bei der Prüfung als vollständig eiweißfrei gefundenen Filtrat werden 25 ccm, also die Hälfte des angewandten Blutes unter Zusatz einer Spur Talcums zur Vermeidung des leicht eintretenden Siedeverzugs in einem kleinen Kjeldahl-Kolben mit Mikroschwefelsäure[2]) verbrannt und dann, wie weiter unten geschildert, der Mikro-Kjeldahl-Destillation und -Titration unterworfen.

b) In einer Verdünnung 1:20.

Statt das Gesamtblut in beliebiger Verdünnung zu enteiweißen, kann man mit sehr großem Vorteil die Verdünnung 1:20 zur Enteiweißung benützen. Von dem am Gerinnen verhinderten und gut gemischten Blut werden 1,25 ccm mit einer Pipette in einen graduierten 25 ccm-Standzylinder mit Glasstopfen genau abgemessen, bis zur Marke 17 mit destilliertem Wasser verdünnt, 7 ccm Eisenlösung tropfenweise unter langsamem Hin- und Herschwenken, so daß kein Schaum entsteht, hinzugegeben, bis zur Marke 25 mit 10%igem Kaliumsulfat aufgefüllt, stark geschüttelt und filtriert. Vom Filtrat werden

---

[1]) Statt das Blut zu wiegen, kann man auch das gut gemischte Blut mit einer Pipette genau abmessen und im Analysenresultat bemerken: in 100 g oder in 100 ccm Blut bzw. Serum sind ... mg Rest-N enthalten.

[2]) Siehe S. 403.

14 ccm[1]), also 0,7 ccm des ursprünglich unverdünnten Blutes, zur weiteren Analyse benützt.

2. Enteiweißung des Blutserums, und zwar in einer Verdünnung 1 : 10.

Nach der Ansicht vieler Ärzte (Volhard, Siebeck, Hertz und anderer) ist es einfacher und für den Vergleich der Stickstoffkonzentration im Harn und Blute (Ambardsche Konstante) richtiger, die Rest-N-Bestimmung nur in dem Serum oder Plasma des Blutes auszuführen. Zu diesem Zwecke läßt man aus dem Blute durch längeres Stehenlassen, eventuell im Eisschrank, oder bei dringenden Analysen durch starkes Zentrifugieren das Serum sich abscheiden, mißt mit der Pipette genau etwa 1,5 bis 2 ccm davon in einen graduierten Standzylinder (wie oben genannt) ab, verdünnt das Serum mit destilliertem Wasser etwa 7- bis 8fach, fügt die 2fache Menge des angewandten Serums kolloidale Eisenlösung[2]) in 2 bis 3 Portionen hinzu, mischt jeweils, ohne Schaum zu erzeugen, durch langsames Hinundherschwenken alles gut durch und füllt mit 10⁰/₀iger Kaliumsulfatlösung bis zur Marke der 10fachen Verdünnung der angewandten Serummenge auf. Ist die Enteiweißung richtig erfolgt, so zeigt das Ganze trotz starken Schüttelns keine Spur von Schaum. Von dem klaren und bei der Prüfung mit Sulfosalicylsäure als vollkommen eiweißfrei gefundenen Filtrat benützt man zur weiteren Verarbeitung normalerweise 7 ccm[3]). Sollte aus irgendeinem Grunde das Filtrat der 1 : 10-Enteiweißung noch Spuren von Eiweiß enthalten, so verdünnt man dasselbe mit destilliertem Wasser unter Zugabe von noch einigen Kubikzentimetern Eisenlösung auf das Doppelte der erhaltenen Filtratmenge (Enteiweißung 1 : 20) und benützt dann von dem neuen Filtrate

[1]) 14 ccm Filtrat einer Verdünnung 1 : 20, oder 7 ccm einer Verdünnung 1 : 10, also immer 0,7 ccm des unverdünnnten Blutes bzw. Serums werden, wie ich später zeigen werde, deshalb gewählt, um die Analysenberechnung möglichst zu vereinfachen.

[2]) Die Güte der Eisenlösung ist für diese Enteiweißung 1 : 10 von großer Wichtigkeit, da sonst bei schlechter Beschaffenheit derselben die Enteiweißung nicht vollständig und eine Verdünnung 1 : 20 mit etwas vermehrtem Eisenzusatz erforderlich ist.

[3]) Vgl. Fußnote 1, s. o.

14 ccm, oder bei nicht genügender Filtratmenge 7 ccm (0,35 unverdünntes Serum).

B. Mikro-N-Destillation.

Die bei der jeweils angewandten Enteiweißungsart abzupipettierende Filtratmenge (immer 0,7 oder bei stark erhöhtem R.-N 0,35 ccm ursprüngliches Blut bzw. Serum) wird in einem langhalsigen 100 ccm-Kjeldahl-Kolben mit ca. 2,5 bis 3 ccm sog. Mikroschwefelsäure verbrannt. Diese stellt man sich auf folgende Weise her: 15 g N-freies Kaliumsulfat und 5 g reinstes Kupfersulfat werden in einem reinen Becherglase unter schwachem Erwärmen in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst und unter vorsichtigem Rühren mit einem Glasstabe 400 ccm reinste konzentrierte Schwefelsäure langsam hinzugesetzt. Nach der Verkühlung wird das Gemisch in eine vorher mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigte Flasche abgefüllt und unter gutem Verschlusse gehalten. Zweckmäßig hält man sich in einem gut passenden durchbohrten Stopfen (paraffinierter Kork oder Gummi) eine Standpipette, deren oberes Ende selbst wieder durch ein kleines Stück Gummischlauch verschlossen gehalten wird. Die Verwendung dieser Mikroschwefelsäure hat den großen Vorteil der Beschleunigung und der Gleichmäßigkeit der einzelnen Analysen.

Zu der nun folgenden Mikro-N-Destillation benütze ich in etwas veränderter Form die von Bang näher beschriebene Anordnung mittels Wasserdampf, wobei allerdings der von Bang so sehr empfohlene Platinkupferkühler jetzt im Kriege nicht beschafft werden konnte, der aber auch für die Güte und Richtigkeit der Analysen, wie sich bei der Ausführung obiger Modifikation gezeigt hat, nicht unbedingt notwendig war. Ein 25 bis 30 cm langer Glasschlangenkühler mit einer etwa 12 bis 15 cm langen und auf ca. 4 bis 5 mm verengten Ausflußspitze aus bestem Glase tut die gleichen Dienste und ergibt einwandfreie Analysenresultate[1]). Auf den den Wasserdampf entwickelnden Glaskolben ($^3/_4$-Literkolben aus Jenenserglas mit verstärktem Halsrand) habe ich, um bequem Wasser nachfüllen zu können,

[1]) Die aus dem Glase abgegebene Alkalimenge entsprach im Maximum einer Erhöhung des einzelnen Rest-N um 1 bis 1,5 mg, die vernachlässigt werden konnte.

noch einen Tropftrichter und eine Vorratsflasche für Wasser aufgesetzt, durch den man bequem Wasser nachfüllen und zur Vermeidung des Siedeverzugs ebenfalls von Zeit zu Zeit eine kleine Messerspitze Talcum zusetzen kann. Um den Glaskühler auch innen bequem spülen zu können, habe ich auf seinen oberen Einfluß ein Glasrohr-T-Stück eingesetzt, dessen oberer Schenkel mit einem guten Gummistopfen verschlossen gehalten wird. Die ganze Anordnung veranschaulicht folgende schematische Zeichnung.

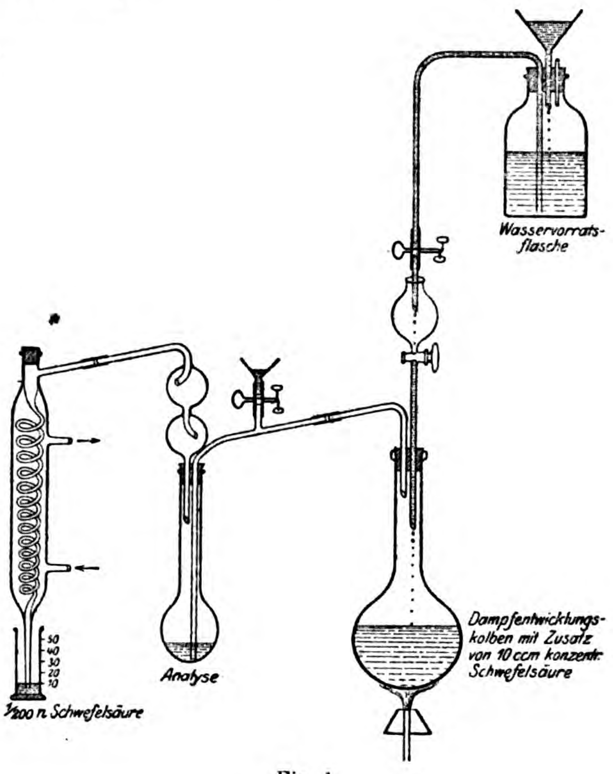


Fig. 1.

C. Mikro-N-Titration.

Die weitere Bestimmung des destillierten Ammoniaks erfolgt dann mit Hilfe der auch von Bang empfohlenen jodometrischen Titration, und zwar auch wieder in etwas veränderter Form. Es ist dieses die exakteste maßanalytische

Bestimmung. Das übergehende Ammoniak wird in 10 bis 20 ccm $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure, die man sich aus 10 ccm n-Schwefelsäure durch Verdünnung mit reinstem säurefreien[1]) Wasser auf 2000 ccm herstellt, aufgenommen. Die durch das Ammoniak gebundene bzw. nicht verbrauchte Menge Säure wird auf jodometrischem Wege unter Zusatz bestimmter Mengen Kaliumjodid (KJ, Kalium jodatum) und Kaliumjodat (KJO_3, Kalium jodicum) durch Titration des der nicht verbrauchten Säuremenge äquivalent ausgeschiedenen Jods mit Natriumthiosulfatlösung unter Zugabe von Stärkelösung als Indicator bestimmt. Schwefelsäure und Thiosulfatlösung werden in 10 ccm-Büretten mit $^{1}/_{20}$ oder $^{1}/_{50}$ ccm-Einteilung, die mit den Vorratsflaschen in dauernder Verbindung stehen und durch Natronkalkröhren verschlossen gehalten werden, aufs genaueste abgemessen.

Während der Titer einer $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure bei gutem Verschluß mit Natronkalkröhren sich kaum ändert, ist leider der Titer einer $^{n}/_{200}$-Natriumthiosulfatlösung nicht haltbar, indem der Gehalt der Lösung immer schwächer wird. Es ist deshalb zweckmäßig, die Thiosulfatlösung in einer Stärke von $^{1}/_{100}$- bis $^{1}/_{200}$-Normalität herzustellen, indem man etwa 13 bis 16 ccm n-Natriumthiosulfatlösung auf 2000 ccm mit reinstem CO_2-freiem Wasser (durch Auskochen in einer guten Porzellanschale oder Jenenserglaskolben) verdünnt und auch hier wieder den Zutritt der Luftkohlensäure durch Natronkalkröhren verhindert. Durch Ausführen einer Blindtitration läßt sich der jeweilige Titer der Thiosulfatlösung im Sommer alle 5 bis 6 Tage, im Winter alle 10 bis 14 Tage in wenigen Minuten festsetzen, d. h. bestimmen, wieviel Kubikzentimeter Thiosulfatlösung beliebiger Normalität 10 ccm $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure entsprechen. Werden z. B. für 10 ccm $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure 6,94 ccm Thiosulfatlösung verbraucht, so beträgt der Titer der Thiosulfatlösung $\frac{10}{6,94} = 1,44$; mit dieser sog. Titerzahl (T) ist jeweils

[1]) 10 ccm des zu prüfenden Wassers mit 1 ccm Kaliumjodid, 2 Tropfen Kaliumjodat und 2 Tropfen Stärkelösung versetzt, dürfen innerhalb 15 Minuten keine Blaufärbung zeigen. Tritt jedoch nach 15 Minuten auch auf Zusatz von 1 bis 2 Tropfen $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure ebenfalls keine Blaufärbung auf, so ist das Wasser alkalisch und ebenfalls nicht brauchbar.

die bei einer Analyse verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter Thiosulfatlösung zu multiplizieren, um dieselbe in $^{n}/_{200}$-Lösung umzurechnen.

Hat man nun eine N-Destillation und -Titration auszuführen, so wird der oben beschriebene Destillationsapparat, wenn er einen Tag oder länger unbenützt gestanden hat, erst ca. 5 Minuten ausgedampft, um evtl. innere Verunreinigungen desselben zu entfernen. Sodann werden mittels der Bürette aufs genaueste 10 ccm $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure zweckmäßig in ein 50 ccm-Maßzylinderchen, das mit reinstem destillierten Wasser 2 mal gespült ist, abgemessen und an die Abflußöffnung des Kühlers unter schwachem Eintauchen angeschlossen. Hierauf wird der nach der Verbrennung vollkommen erkaltete Mikro-Kjeldahl-Kolben mit ca. 5 bis 6 ccm destillierten Wassers versetzt, die sich erwärmende Lösung in kaltem Wasser wieder abgekühlt und dann dicht schließend an den Apparat angefügt. Dabei ist zu beachten, daß, während der Quetschhahn des Laugetrichterchens geschlossen ist, der Glashahn des Tropftrichters vorerst offen zu halten ist, da sonst leicht der Analyseninhalt in den Wasserdampfentwicklungskolben zurücksteigen kann. Hierauf läßt man durch den Laugetrichter konzentrierte N-freie und carbonatarme Natronlauge in kleinem Überschusse langsam zufließen, d. h. so viel, bis der fast farblose Kolbeninhalt die blaue, selten braunschwarze Kupfersalzfarbe zeigt, ein Zeichen, daß alkalische Reaktion vorhanden ist. Nachdem nun der Hahn des Tropftrichters geschlossen ist, wird sofort die Wasserdampfdestillation in lebhaften Gang gebracht und so lange in die vorgelegte Schwefelsäure unter Eintauchen abdestilliert, bis die Gesamtdestillationsmenge im Zylinder etwa 30 ccm beträgt; hierauf wird der Schwefelsäurezylinder gesenkt und noch offen etwa 5 bis 8 ccm zur Kühlerreinigung von anhängender Schwefelsäure hinzudestilliert, worauf die Dampfentwicklung unterbrochen und der Tropftrichterhahn wieder geöffnet wird. Die ganze Destillation dauert etwa 6 bis 8 Minuten und gestattet nach Bang, in jeder Minute etwa 1 mg N zu destillieren. Da selbst bei einem Rest-N-Gehalt von 400 mg in der Analyse noch nicht einmal ganz 4 mg N zu destillieren sind, so hat man bei der Befolgung obiger Vorschrift ohne weitere Prüfung die Gewißheit und mehrfache

Sicherheit, bei allen Analysen den Stickstoff quantitativ und gleichmäßig abdestilliert zu haben. Schließlich wird der Kühler auch außen mit wenig destilliertem Wasser abgespült[1]). Wurde bei der Destillation aus irgendeinem Grunde die vorgelegte Schwefelsäure sehr hoch in den Kühler hinaufgezogen, so daß Bedenken bestehen, ob alle vorgelegte Säure durch die Destillation wieder in den Zylinder gespült ist, so läßt sich letzteres leicht durch das oben aufgesetzte Glasrohr-T-Stück bewerkstelligen. Destillations- und Spülflüssigkeit betragen zusammen jedoch nie mehr als 45 bis 50 ccm.

Ist noch eine weitere Destillation auszuführen, so wird dieselbe in der gleichen Weise durchgeführt, währenddessen man die erste Analyse titriert. Zu diesem Zwecke gibt man in den ersten Zylinder etwa 6 ccm 5%ige Kaliumjodidlösung und 6 bis 8 Tropfen 4%ige Kaliumjodatlösung, wobei normalerweise Jodausscheidung auftritt. Nach 5 Minuten langem Stehen fügt man, wie auch bei der Titerstellung, etwa 6 Tropfen einer 2%igen Stärkelösung (in 20%iger Kochsalzlösung haltbar) hinzu und läßt nun unter langsamem Hinundherbewegen eines Glasrührers $^n/_{100}$- bis $^n/_{200}$-Thiosulfatlösung hinzufließen. Dabei läßt sich beim Durchblicken der Zylinderflüssigkeit von oben her die geringste Spur einer Bläuung erkennen, so daß man bei Benutzung einer feinen Ausflußspitze auf 0,05 ccm genau titrieren kann.

D. Die Berechnung.

1. Zu der nun folgenden Berechnung hat man, um die von dem übergegangenen Ammoniak verbrauchte Menge Schwefelsäure zu bestimmen, zuerst die abgelesene Anzahl Kubikzentimeter verbrauchter Thiosulfatlösung ($Na_2S_2O_3$) einer beliebigen Normalität zur Umrechnung in $^1/_{200}$-Normallösung mit der jeweiligen Titerzahl (T) zu vervielfachen und von der Menge der vorgelegten Säure (H_2SO_4) abzuziehen. Es seien z. B. 4,58 ccm Thiosulfatlösung verbraucht worden; diese Zahl mit dem je-

[1]) Durch eine Spritzflasche mit vorgeschaltetem kleinem Natronkalkrohr (Absorption der CO_2).

weiligen Titer z. B. $\frac{10}{6,94} = 1,44$ vervielfacht, ergibt $4,58 \cdot 1,44 = 6,62$ ccm $^{n}/_{200}$-Thiosulfatlösung; man würde also, in andern Worten ausgedrückt, wenn die Thiosulfatlösung nicht beliebig, sondern genau $^{n}/_{200}$ gewesen wäre, nicht 4,58 ccm, sondern 6,62 ccm verbraucht haben. Zieht man nun diese Zahl von der normalerweise vorgelegten Anzahl von 10 ccm Schwefelsäure ab, so ergeben sich $10 - 6,62 = 3,38$ ccm von durch das Ammoniak verbrauchter Schwefelsäure. 1 ccm dieser $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure entspricht einem N-Gehalt von 0,07 mg, also ergeben $3,38$ ccm $= 3,38 \cdot 0,07$ mg N; dieses ist die N-Menge, die in der zur Analyse benützten Blut- bzw. Serummenge von 0,7 ccm enthalten ist. In 100 ccm Blut sind also dann enthalten:

$$\frac{3,38 \cdot 0,07 \cdot 100}{0,7} = 10 \cdot 3,38 = 33,8 \text{ mg Rest-N},$$

oder in einer allgemeinen Formel ausgedrückt, erhält man:

$$(H_2SO_4 - [T \cdot Na_2S_2O_3]) \cdot 10 = x \text{ mg Rest-N}.$$

Man hat also bei einer Enteiweißung 1 : 20 bzw. 1 : 10 für die Berechnung folgende einfache Regel: Beträgt die zur Verbrennung gelangte Blut- bzw. Serummenge 0,7 ccm (in 14 bzw. 7 ccm Filtrat), so hat man den nach der Titerumrechnung und bei der Differenzbildung erhaltenen Rest der vorgelegten Anzahl Kubikzentimeter $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure nur mit 10 zu multiplizieren, um das Resultat der Rest-N-Bestimmung in Milligramm für 100 ccm Blut bzw. Serum zu erhalten, oder mit andern Worten: Jeder durch das überdestillierte Ammoniak verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure entspricht 10 mg Rest-N, die normalerweise vorgelegten 10 ccm genügen also für eine Bestimmung von 100 mg Rest-N. Ist derselbe höher als 100 mg, so daß die vorgelegte Säure nicht genügt, also keine Jodausscheidung eintritt, so legt man für eine weitere Bestimmung mehr Säure vor, oder, was besser ist, man benützt statt 0,7 ccm Serum nur die Hälfte, 0,35 ccm, und multipliziert die Differenzzahl der Schwefelsäure statt mit 10 mit 20, oder kombiniert beides miteinander. Sollte nun aus obigem Grunde keine Jodausscheidung erfolgen, so braucht man, wie auch Bang für seine Titration angibt, die Analyse nicht für

verloren betrachten, vielmehr gibt man eine weitere Menge genau gemessener $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure hinzu, und zwar in großem Überschusse bis zur starken Gelbfärbung, da sonst bei nachträglicher Zugabe von Schwefelsäure und nur kleinem Säureüberschuß die Jodausscheidung nicht mehr quantitativ verläuft. Will man letzteres vermeiden, so bestimmt man zweckmäßig vor Zugabe der Jodreagenzien die Reaktion des Destillats mit empfindlichem Lackmuspapier.

2. Etwas anders gestaltet sich die Berechnung, wenn man nicht in einer 20- oder 10fachen, sondern in beliebiger Verdünnung enteiweißt und vom Filtrate die Hälfte der angewandten Verdünnung zur Verbrennung verwendet.

Es seien z. B. 1,54 g Gesamtblut bei der Enteiweißung auf 60 ccm verdünnt und zur Verbrennung die Hälfte, also 30 ccm Filtrat, benützt worden. Bei der Titration mit Natriumthiosulfatlösung seien 5,04 ccm mit einem Titer von $\frac{10}{10{,}18} = 0{,}982$, also $5{,}04 \cdot 0{,}982 = 4{,}95$ ccm $^{n}/_{200}$-Thiosulfatlösung verbraucht worden. 10 ccm $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure wurden vorgelegt, so daß also durch das Ammoniak $10{,}0 - 4{,}95 = 5{,}05$ ccm abgesättigt wurden. 1 ccm der $^{n}/_{200}$-Schwefelsäure entspricht wieder 0,07 mg N, man erhält also bei der Berechnung für 100 g Blut folgende Gleichung:

$$\frac{5{,}05 \cdot 0{,}07 \cdot 2 \cdot 100}{1{,}54} = 45{,}9 \text{ mg Rest-N.}$$

Zieht man die in jeder Analyse gleichbleibenden Zahlen als Faktor zusammen, so erhält man folgende vereinfachte Gleichung:

$$5{,}05 \cdot \frac{14}{1{,}54} = 45{,}9 \text{ mg Rest-N,}$$

oder in allgemeiner Formel ausgedrückt:

$$(H_2SO_4 - [T \cdot Na_2S_2O_3]) \cdot \frac{14}{b} = x \text{ mg Rest-N.}$$

Mit Worten: Benützt man zur Enteiweißung des Blutes eine beliebige Verdünnung und vom Filtrate die Hälfte der angewandten Verdünnung zur Verbrennung, so hat man die bei der Differenzbildung erhaltene Anzahl Kubikzentimeter Schwefelsäure mit

dem Faktor 14 zu multiplizieren und durch die zur Enteiweißung benützte Anzahl Gramm Blut (b) zu dividieren, um das Resultat der Rest-N-Bestimmung in Milligramm für 100 g Blut bzw. Serum zu erhalten.

Schluß.

Was die Schnelligkeit dieser Mikro-Rest-N-Bestimmung im Vergleich mit den Makromethoden und auch der Bangschen Mikromethode betrifft, so ist sie den Makromethoden weit überlegen und in der Durchführung bedeutend leichter als die Bangsche Methode, so daß auch ein chemisch weniger Geübter dieselbe zuverlässig auszuführen imstande ist. Die ganze Rest-N-Bestimmung dauert etwa 1 Stunde, und bei einiger Übung ist es ein leichtes, in 2 Stunden 4 bis 5 Bestimmungen auszuführen.

Schließlich möchte ich es nicht versäumen, auch auf die von Bang angegebenen Vorsichtsmaßregeln hinzuweisen, deren genaue Befolgung für die Richtigkeit der Bangschen Analysen unbedingt erforderlich ist, während sie für die oben geschilderte Methode zwar nicht absolut notwendig, aber doch sehr vorteilhaft ist.

1. Alle zu benutzenden Glasgefäße sind möglichst unter Verschluß zu halten und evtl. vor der Benützung mit destilliertem Wasser gut zu spülen, so daß der N-haltige blaugraue Beschlag (in der Hauptsache NH_4Cl), der sich in allen Laboratorien, besonders aber in denen Urine zur Untersuchung gelangen, in kurzer Zeit auf allen Gläsern niederschlägt, entfernt wird.

2. Die zur Filtration zu benützenden Filter sind ebenfalls stets gut verschlossen aufzubewahren, da sie sonst nach kurzer Zeit mehr und mehr N-haltig werden.

3. Alle zur Bestimmung erforderlichen Reagenzien sind nur in reinster N-freier Qualität zu gebrauchen und evtl. durch Blindanalysen auf ihren N-Gehalt zu prüfen, gegebenfalls erst N-frei zu machen, oder man kann die N-Verunreinigung von jeder Analyse abziehen (Bang).

4. Die konzentrierte Natronlauge soll nach Bang möglichst auch carbonatarm sein. Man gibt zu diesem Zwecke so

lange N-freies Natron in Stangen zu etwa 500 ccm destillierten Wassers, bis ein Teil desselben sich nicht mehr löst; dabei bleibt das nur in verdünnter Lauge lösliche Natriumcarbonat ungelöst zurück, das man durch Filtration mit einer Asbestfilternutsche, oder auch durch längeres Absitzenlassen, oder am schnellsten durch Zentrifugieren entfernen kann.

Literatur.

Bang, „Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile" (Bergmann, Wiesbaden).

Feigl, diese Zeitschr. **76**, 1916; **81**, 1917.

Feigl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **83**, 1918.

Hohlweg und Meyer, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1908**, XI.

Michaelis-Rona siehe Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **1**, 696.

Strauß, „Die chronische Nierenentzündung und deren Behandlung". Berlin 1902.

Siebeck, Arch. f. klin. Med. **116**, 58.

Volhard, „Die doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen" (Springer, Berlin 1918).

Autorenverzeichnis.







